



**Daniel Filipe Coelho  
Vidal**

**Desenvolvimento de três cervejas: cerveja pelo  
método champanhês, cerveja de fruta e cerveja  
Gose**



**Daniel Filipe Coelho  
Vidal**

**Desenvolvimento de três cervejas: cerveja pelo  
método champanhês, cerveja de fruta e cerveja  
Gose**

Dissertação apresentada à Universidade de Aveiro para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Biotecnologia, ramo em Biotecnologia Alimentar, realizada sob a orientação científica do Professor Doutor José António Teixeira Lopes da Silva, Professor Auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro e de Cláudio Miguel Fernandes Silva de Oliveira, Sócio-Gerente da Empresa Poder do Lúpulo – Cervejeiros.

Dedico este trabalho à minha família, namorada e amigos por todo o apoio.

**o júri**

**presidente**

Doutor Jorge Manuel Alexandre Saraiva  
investigador auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

**arguente**

Prof.<sup>a</sup> Doutora Ana Maria Rebelo Barreto Xavier  
professora auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

**orientador**

Prof. Doutor José António Teixeira Lopes da Silva  
professor auxiliar do Departamento de Química da Universidade de Aveiro

## **agradecimentos**

Ao encerrar mais um ciclo, gostaria de manifestar o mais profundo agradecimento a todos os colaboradores da Empresa Poder do Lúpulo - Cervejeiros, que tão bem me acolheram.

Em especial ao Arlindo e Cláudio, pela aprendizagem contínua, por todo o apoio e pela paciência demonstrada.

Ao Prof. Dr. José António Teixeira Lopes da Silva pela orientação, partilha de conhecimento e disponibilidade manifestadas.

À minha família, em especial aos meus pais e irmã, que têm sido o meu suporte ao longo de toda a vida.

À minha namorada, Patrícia, por tudo e mais alguma coisa, bem mais do que as palavras poderiam expressar.

Aos meus amigos que sempre estiveram lá, apoiando e encorajando a cada passo da caminhada.

E por fim, a Deus porque sem Ele não teria seguramente conseguido chegar aqui. “Porque d’Ele e por Ele, e para Ele são todas as coisas; glória, pois, a Ele eternamente”.

## palavras-chave

malte, lúpulo, levedura, cerveja, produção cervejeira, fermentação.

## resumo

A produção de cerveja é uma atividade milenar, sendo que ao longo da história tem sido pautada pela constante evolução e inovação. Existem diferentes estilos de cerveja e técnicas de produção, embora a base da produção consista em utilizar grão maltado (rico em amido que por ação de enzimas originará açúcares mais simples), lúpulo (apresenta grande teor de  $\alpha$ -ácidos, que serão isomerizados e serão responsáveis pelo amargor), água e leveduras (diferentes estirpes podem ser usadas, produzindo etanol e dióxido de carbono).

O estágio curricular no âmbito desta tese de mestrado foi realizado na Cinco Chagas, uma microcervejeira sediada em Anadia, tendo já sido reconhecida com alguns prêmios no estrangeiro. O estágio teve como objetivos, a aquisição de conhecimentos e competências na produção cervejeira e o desenvolvimento de cervejas específicas. O primeiro objetivo foi alcançado através da participação ativa nas várias atividades da empresa, nomeadamente as várias etapas da produção, higienização do equipamento e o engarrafamento.

Quanto ao segundo objetivo, uma das cervejas desenvolvidas foi uma cerveja Gose com adição de sal verde, que consiste em salicórnia triturada e seca. Para efeitos de comparação em termos de sabor e aroma, desenvolveu-se uma cerveja com a mesma receita de base mas utilizando flor de sal em vez de salicórnia. Outra das cervejas desenvolvidas foi uma cerveja com adição de framboesas que foram adicionadas na etapa da fermentação, garantindo um perfil frutado bastante presente principalmente no aroma. Por fim, a última cerveja desenvolvida foi refermentada pelo método champanhês, que consiste na adição de uma solução altamente açucarada à garrafa e prolongada maturação, permitindo que se desenvolvam elevadas quantidades de dióxido de carbono e que posteriormente ocorra precipitação de leveduras e outro material (*remuage*) clareando a cerveja, sendo este material seguidamente removido (*dégorgement*). Esta cerveja permanece em maturação.

Foram, ainda, realizadas análises às cervejas, nomeadamente, foi calculado o teor alcoólico para cada cerveja, obtendo-se valores de 5.1-6.7% para as cervejas à exceção da cerveja pelo método champanhês onde se obteve 9.4%; foi medido o pH antes e após refermentação em garrafa, não havendo alteração relevante em nenhuma cerveja; o teor de açúcares redutores remanescente da fermentação principal foi quantificado pelo método do DNS, obtendo-se valores médios de 14.7, 15.1, 18.5 e 23.6 mg/mL para as cervejas de salicórnia, cerveja de framboesa, cerveja pelo método champanhês e cerveja de sal, respetivamente.

O estágio foi enriquecedor e permitiu desenvolver produtos com o potencial de virem a ser comercializados.

**keywords**

malt, hops, yeast, beer, brewing, fermentation.

**Abstract**

The production of beer is an activity that has been around for millennia and throughout history has been guided by constant evolution and innovation. Different brewing styles and production techniques exist, although production is based on the same fundamental stages, namely the use of malted grain (rich in starch which by enzymatic action will give rise to simpler sugars), hops (with a high content of  $\alpha$ -acids, which will be isomerized and will be responsible for bitterness), water and yeast (different strains can be used, producing ethanol and carbon dioxide).

Cinco Chagas is a microbrewery based in Anadia, having already been recognized with some prizes abroad. The internship was aimed at acquiring knowledge and skills in brewing technology and developing specific beers. The first objective was achieved through active participation in the different company activities, namely the different stages of production, equipment's hygienization and bottling.

As for the second objective, one of the beers developed was a Gose beer with added salicornia that was crushed and dried. For comparison in terms of flavor and aroma, a beer with the same recipe was developed but using salt flower instead of salicornia. Another of the beers developed was a beer with addition of raspberries that were added in the fermentation stage, guaranteeing a fruity profile quite present mainly in the aroma. Finally, the last developed beer was fermented in the bottle through the method used in the production of champagne, which consists in the addition of a highly sugary solution to the bottle and prolonged maturation, allowing a high amount of carbon dioxide to develop and subsequent precipitation of yeasts and other material (*remuage*) making the beer clearer, this precipitated material being subsequently removed (*dégorgement*). This beer remains in maturation stage.

In addition, some analyses were performed to the beers. The results obtained for the alcohol content were 5.1-6.7%, except for the beer produced by the champagne method, which showed an alcohol content of 9.4%. The pH was measured before and after bottle fermentation, with no relevant alteration in any beer. The amount of reducing sugars remaining in the beer after main fermentation was determined by the DNS method, with average values of 14.7, 15.1, 18.5 and 23.6 mg/mL for salicornia beer, raspberry beer, beer produced by the champagne method and salt beer, respectively.

The internship was rewarding and allowed to develop products with the potential to be marketed.

# Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

## Índice

Siglas e Abreviaturas.....	8
Índice de Figuras .....	9
Índice de Tabelas.....	10
Índice de Equações.....	10
1. Introdução .....	11
1.1 Objetivos .....	11
1.2 Empresa.....	11
1.3 História da Cerveja.....	13
2. Revisão bibliográfica do processo de produção de cerveja.....	17
2.1 Matéria-prima.....	17
2.1.1 Cereais .....	17
2.1.2 Lúpulo .....	19
2.1.3 Leveduras .....	21
2.2 Processo produtivo .....	24
2.2.1 Moagem.....	24
2.2.2 Brassagem e Separação do Mosto .....	25
2.2.3 Fervura .....	28
2.2.4 Fermentação e Maturação .....	30
2.3 Diversidade do produto .....	33
3. Desenvolvimento do trabalho na empresa.....	34
3.1 Produção.....	34
3.2 Higienização do material e equipamento .....	36
3.3 Engarrafamento .....	38
3.4 Outras atividades .....	39
3.5 Desenvolvimento das cervejas relativas ao estágio.....	41
3.5.1 Cerveja <i>Gose</i> .....	41
3.5.2 Cerveja de fruta .....	42
3.5.3 Cerveja pelo método champanhês .....	44
3.6 Análises laboratoriais .....	45
3.6.1 Métodos e materiais .....	45
3.6.1.1 Análise dos açúcares redutores.....	45



3.6.1.2 Análise do amargor .....	46
3.6.2 Resultados e discussão .....	47
3.6.2.1 Valores de densidades e teor alcoólico.....	47
3.6.2.2 Valores de pH antes e após refermentação.....	48
3.6.2.3 Valores da análise dos açúcares redutores .....	48
4. Conclusão do Relatório de Estágio .....	50
5. Referências.....	52
Anexos.....	57
Anexo 1 – Compêndio de diferentes estilos de cerveja.....	57
Anexo 2 – Receita das cervejas com adição de salicórnia e flor de sal.....	60
Anexo 3 – Receita da cerveja com adição de framboesas.....	61
Anexo 4 - Receita da cerveja produzida pelo método champanhês. ....	62
Anexo 5 – Tabela com valores de absorvância a 540 nm e respectivas concentrações de açúcares redutores (mg/mL) das 6 amostras de cada uma das 4 cervejas. ....	63

## **Siglas e Abreviaturas**

ABV – *Alcohol By Volume*

ADP – Adenosina difosfato

ATP – Adenosina trifosfato

BJCP- *Beer Judge Certification Program*

DHAP – Dihidroxiacetona fosfato

DNS – Ácido 3,5- dinitrosalicílico

FG – *Final Gravity*

IBU – *International Bittering Units*

IPA – *India Pale Ale*

NAD<sup>+</sup> - Dinucleótido de nicotinamida e adenina (oxidado)

NADH – Dinucleótido de nicotinamida e adenina (reduzido)

OG – *Original Gravity*

RNA- Ácido Ribonucleico

## **Índice de Figuras**

Figura 1. Exemplo de grãos maltados. ....	19
Figura 2. Flor de lúpulo. ....	21
Figura 3. Lúpulo em <i>pellets</i> . ....	21
Figura 4. Respiração aeróbia. ....	23
Figura 5. Fermentação alcoólica. ....	23
Figura 6. Exemplo de um processo produtivo. ....	24
Figura 7. Moinho de rolos. ....	25
Figura 8. Malte moído. ....	25
Figura 9. Grão após brassagem. ....	28
Figura 10. Isomerização dos $\alpha$ -ácidos. ....	30
Figura 11. Produto Star San HB. ....	37
Figura 12. Secagem das garrafas após higienização. ....	37
Figura 13. Equipamento de engarrafamento. ....	38
Figura 14. Doseadora peristáltica para adição de solução açucarada no processo de engarrafamento. ....	39
Figura 15. Encapsulador. ....	39
Figura 16. Gráfico dos valores de absorvância (540 nm) dos padrões em função da sua concentração (mg/mL). ....	49

## **Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas**

### **Índice de Tabelas**

Tabela 1. Valores de densidade do mosto e respectivo teor alcoólico de cada uma das 4 cervejas. ....	47
Tabela 2. Valores de pH antes e após refermentação em garrafa das 4 cervejas. ....	48
Tabela 3. Valores de concentração e absorvância dos padrões de maltose. ....	49
Tabela 4. Valores médios das concentrações de açúcares redutores nas cervejas e respectivo desvio padrão. ....	50

### **Índice de Equações**

(Eq. 1.) Cálculo do teor alcoólico .....	366
.....	

## **1. Introdução**

### **1.1 Objetivos**

A variedade no mundo da produção cervejeira é grande, podendo variar-se quer no tipo de malte, lúpulo, adição de outros ingredientes e tipos de microorganismos responsáveis pela fermentação. Além da utilização do género *Saccharomyces*, é possível fermentar uma cerveja pelo método de fermentação espontânea, em que o mosto fica sujeito à fermentação de algumas bactérias e outros fungos presentes no ar. Isto torna possível a existência de diferentes estilos de cerveja, com características muito diversas e que podem agradar a um vasto leque de paladares. Desde cervejas com muito lúpulo, como é o caso das *India Pale Ales* (IPA), até cervejas com adição de frutas, passando por cervejas mais suaves e refrescantes como as tão conhecidas *Pilsners*. Há, por isso, lugar a constante desenvolvimento de produtos novos.

Os objetivos deste estágio visavam, numa primeira fase, o contato com as várias etapas e matérias primas do processo de fabrico de cerveja, contribuindo para a aquisição de conhecimento e competências no desempenho desta atividade, sendo que numa fase posterior essas mesmas competências seriam empregues na concretização dos restantes objetivos, nomeadamente, a produção das cervejas relativas ao estágio, cerveja com adição de salicórnia, cerveja com adição de fruta e cerveja refermentada pelo método champanhês. Posteriormente as várias cervejas foram analisadas no Departamento de Química da Universidade de Aveiro, enriquecendo o estágio com uma componente laboratorial.

### **1.2 Empresa**

A empresa Poder do Lúpulo – Cervejeiros, Lda. foi fundada em 2014, sendo a detentora da marca de cerveja artesanal Cinco Chagas. Esta empresa foi criada por um grupo de amigos que tendo já uma paixão pela cerveja artesanal, a qual produziam desde 2011, decidiram comercializar as cervejas que tinham ido refinando e testando ao longo desses três anos.

Sediada na Bairrada, zona tradicionalmente ligada à produção de espumante e vinho, a empresa é influenciada por este fator, quer pelo *know-how* que os sócios já tinham da produção dessas bebidas transpondo esse conhecimento para a produção

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

cervejeira, quer nos produtos da marca, nomeadamente em termos das embalagens utilizadas (utilização de garrafas comumente usadas para espumante, preparadas para maiores níveis de pressão) e na inovação de produtos, uma vez que produziram a primeira cerveja portuguesa pelo método champanhês.

A qualidade e inovação são objetivos centrais da empresa, traduzindo-se pela obtenção de matérias primas de qualidade reconhecida e pelo constante ajuste das cervejas da marca, bem como da produção esporádica de edições especiais, onde potencialmente se inserem as cervejas obtidas durante este estágio (uma *sour beer* com adição de salicórnia, uma *fruit beer* e uma cerveja pelo método champanhês, diferente da anteriormente produzida pela marca).

A produção atual ronda, em média, os 1.500 litros mensais, no entanto a empresa tem capacidade produtiva para quantidades superiores, esperando crescer para 2.500 litros mensais num futuro próximo. Em termos de equipamento/infraestruturas, a fábrica está equipada com densímetros e termómetros; painéis de brassagem e fervura com capacidade de 1000L, além de painéis de capacidade inferior (100L) para produção de lotes experimentais; fermentadores que permitem o controlo e manutenção da temperatura de fermentação com capacidades de 500L e 1000L, além de fermentadores de menor capacidade (70L e 300L) para lotes experimentais; equipamento de engarrafamento por vácuo, evitando o contacto da cerveja com o ar, retirando o ar da garrafa e introduzindo o líquido; encapsulador; câmaras com controlo de temperatura para armazenar as matérias primas (malte e lúpulos); moinho para efectuar a moagem; permutador de placas para arrefecimento do mosto.

Além das edições especiais, a marca conta com seis tipos de cerveja de produção habitual, uma *lager* e cinco *ales*, sendo que algumas já foram distinguidas com prémios, incluindo duas medalhas de ouro nos *World Beer Awards*. As cervejas da marca encontram-se disponíveis em cafés, restaurantes e lojas de produtos artesanais/gourmet, com maior incidência nas cidades de Aveiro e Coimbra.

### **1.3 História da Cerveja**

A cerveja é uma bebida à base de malte, com adição de lúpulos e que é fermentada por leveduras, e tal como outras bebidas fermentadas (vinho, hidromel) o seu início prende-se com os primórdios da civilização. Ao longo da história a cerveja acompanhou o progresso humano sendo também afetada por este, chegando aos nossos dias como uma bebida com grande abrangência de estilos e sabores, revestida de grande importância cultural em vários países, nomeadamente na Bélgica, onde recentemente foi reconhecida como Património Imaterial da Humanidade pela UNESCO<sup>1</sup>.

Os cereais ganharam relevância à medida que o ser humano se foi estabelecendo em povoados e foi domesticando e cultivando plantas, como o trigo e a cevada, uma vez que estes eram uma boa fonte de energia e eram facilmente cultivados e armazenados<sup>2</sup>. De acordo com relatos históricos e evidências arqueológicas (por exemplo, vasos com presença de oxalato em regiões com plantações de grãos e locais que se crê serem cervejarias pela presença de cubas), a produção de bebidas fermentadas à base de grãos terá começado nas regiões do Crescente Fértil, Egito e Mesopotâmia<sup>2,3</sup>. A heterogeneidade deste tipo de bebidas era já grande, uma vez que eram adicionadas diferentes combinações de cereais e também várias plantas e frutos necessários para que ocorresse a fermentação, pois era na superfície destes que estavam presentes os microorganismos que iriam fazer a conversão dos açúcares em etanol<sup>2</sup>. Além disso, também era muitas vezes adicionado mel para aumentar o teor de açúcares, visto que a extração destes a partir dos grãos era ainda muito primitiva e para reduzir o risco de contaminação realizava-se, frequentemente, fermentação láctica<sup>2</sup>. Algumas destas características conservam-se, ainda hoje, nalguns estilos de cerveja existentes.

A cerveja foi desvalorizada por gregos e romanos que demonstravam uma preferência por outras bebidas, nomeadamente o vinho, sendo este muito consumido principalmente em classes sociais superiores. No entanto, contemporaneamente a estes, outros povos tinham tradição cervejeira, como é o caso de celtas e povos germânicos<sup>2,3</sup>. Os celtas tiveram um papel importante no desenvolvimento da produção cervejeira, uma vez que para evitar contaminação dos grãos por fungos introduziram a técnica de secagem dos cereais usando temperaturas elevadas, o que até aí noutras partes do globo era feito apenas por secagem ao ar<sup>2</sup>.

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

No começo da idade média e com o aparecimento de mosteiros, a produção cervejeira começou a ser uma atividade realizada pelo clero<sup>2,3</sup>. Diferentes mosteiros no norte da Europa dedicavam-se a produzir cerveja e ainda hoje alguns mosteiros Trapistas o fazem um pouco por todo o mundo. Além disso, os monges também foram responsáveis por descrever pela primeira vez a utilização de lúpulo na cerveja, embora seja possível que povos oriundos do Cáucaso já tivessem usado esta flor nas suas cervejas e que ao migrarem para a Europa tenham introduzido este costume<sup>2</sup>. Para se poder produzir cerveja era necessário adquirir às autoridades locais um ingrediente, que era chamado de *gruit*, este seria uma mistura variável de plantas como coentros, alecrim, myrica gale e o próprio lúpulo, além de leveduras<sup>2,3</sup>. Estas plantas tinham como função dar sabor e proteger as leveduras de outros microorganismos, devido às suas propriedades fungicidas e bactericidas.

Com o decorrer da idade média o fabrico de cerveja passou a ser considerado uma atividade importante na vida das cidades. Aliado a isto, começou a restringir-se a permissão da produção cervejeira a alguns cidadãos que se especializavam e adquiriam equipamentos mais avançados, havendo, assim, uma profissionalização desta atividade<sup>2</sup>. Durante este período surgiram associações de cervejeiros, nas quais estes se organizavam e adquiriam treino, obtinham garantia da qualidade dos produtos e representação. Surgiram, também, leis que regulamentavam a produção de cerveja, quer em termos de matérias primas (preços; quais cereais se deveriam usar e em que alturas do ano usar determinado cereal), quer em questões organizacionais das associações (autorização para produzir; instruções sobre o treino a ser facultado aos cervejeiros), em relação à proteção do consumidor (inspeções a serem realizadas às cervejas; aditivos e teor alcoólico permitidos) e, também, leis que regulamentavam a comercialização das cervejas<sup>2,3</sup>.

Como referido anteriormente, a adição de lúpulo já era uma prática implementada na produção de cerveja, no entanto a quantidade utilizada era variável. A utilização de grandes quantidades, que pode ainda ser encontrada em alguns estilos de cerveja atuais, teve início com as viagens de barco em que era necessário garantir que a cerveja se mantinha estável, sendo que o lúpulo permitia isso pelas suas propriedades antibacterianas<sup>2</sup>. Esta planta ganhou, assim, maior destaque, começando a surgir



## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

plantações de lúpulo em cidades europeias. Nos fins da idade média alguns povos começaram a realizar esta maior adição de lúpulo, nomeadamente cidades do norte da Europa como Hamburgo<sup>2</sup>. Mais tarde esta prática alargou-se a outros povos tendo sido adoptada por holandeses e britânicos, cujos impérios dependiam bastante das suas frotas. Em termos tecnológicos, estas cidades do norte da Europa, otimizaram o fabrico de cerveja, nomeadamente a etapa de fervura para melhor aproveitar o uso do lúpulo, que é adicionado nesta etapa, sendo extraídas para a cerveja as propriedades de interesse desta planta<sup>2</sup>. Ainda é de referir que em termos de equipamento passou-se da utilização de fermentadores de madeira e ferro para grandes fermentadores de cobre o que melhorou a qualidade e a capacidade produtiva<sup>2</sup>.

Os holandeses, além de terem adotado a prática de adicionar grandes quantidades de lúpulo nas suas cervejas, também contribuíram para a evolução da produção cervejeira, especialmente em termos do combustível utilizado, pois em vez da madeira, que até então era comumente usada, usavam carvão e turfa, que eram mais baratos que a madeira e apresentavam maior eficiência<sup>2</sup>. Outro aspecto importante da cultura cervejeira holandesa foi a sua dispersão para outros continentes, surgindo assim a primeira cervejeira na América. Quanto aos britânicos, foram também grandes impulsionadores da produção cervejeira em larga escala, sendo os responsáveis pela industrialização massiva desta atividade<sup>2</sup>. Com a industrialização veio inovação, nomeadamente através de: 1) compartimentalização das várias etapas, minimizando a contaminação; 2) utilização de equipamento em ferro como moinhos para os cereais, tubagem e bombas; 3) capacidade de arrefecer grandes quantidades de mosto; 4) utilização de agentes, como o colagénio, para estabilizar e clarear a cerveja removendo partículas em suspensão; 5) melhorias no processo de maltagem dos grãos<sup>2</sup>.

Enquanto os povos anteriormente descritos produziam cervejas *ale* (cervejas de fermentação alta), na Bavaria começa a afirmar-se outro tipo de cervejas, as *lagers*, cervejas de baixa fermentação<sup>2</sup>. Estas cervejas são fermentadas a temperaturas inferiores, nas quais as leveduras utilizadas tendem a permanecer no fundo do fermentador, ao contrário das utilizadas para produzir cervejas *ale* que durante o processo fermentativo percorrem todo o mosto e flutuam após a fermentação, sendo que daqui advêm as expressões baixa e alta fermentação, respetivamente. Uma das razões

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

para a forte produção desta família de cervejas foi uma lei, que ainda hoje é tida como referência para cervejeiras bávaras, designada Lei de Pureza Bávara ou *Reinheitsgebot*. Esta lei restringia os ingredientes utilizados a apenas três: lúpulo, malte de cevada e água, excluindo assim a utilização de quaisquer outros aditivos<sup>2,3</sup>. Além disso, também impunha proibições à produção, nomeadamente no verão, restringindo esta apenas a alturas do ano em que a temperatura era inferior e que, por isso, fomentava a utilização de leveduras que operassem melhor a este nível de temperaturas<sup>2</sup>. Estas cervejas apresentavam baixa atenuação (decréscimo dos açúcares, com a consequente formação de etanol) e características organoléticas diferentes das produzidas noutros locais<sup>2</sup>. Também a sua estabilidade era muito valorizada pois estas cervejas tinham que manter a qualidade esperada durante o verão, uma vez que não havia produção nesta época. A tecnologia de produção bávara baseava-se na tecnologia britânica, uma vez que esta era a mais avançada da altura, embora fossem utilizadas cubas de maturação, após a fermentação, onde a cerveja podia maturar a baixas temperaturas<sup>2</sup>.

A par deste desenvolvimento na Europa, também outros continentes têm visto a sua tradição cervejeira a crescer. No caso da América, mais concretamente nos Estados Unidos, desde a primeira cervejeira implementada pelos holandeses, a produção de cerveja tem vindo a aumentar e a modernizar-se, sendo que ao longo do tempo uma das suas características é a utilização de cereais não maltados, quer para reduzir custos quer para introduzir características diferentes nas cervejas<sup>2</sup>. Também a inovação no processo de brassagem é um fator a apontar. Como forma de aumentar a estabilidade das cervejas, houve uma otimização dos sistemas de filtragem, introdução de pasteurização e carbonatação artificial<sup>2</sup>.

A cerveja continua a ser uma das bebidas mais consumidas em todo o mundo, e a par de grandes empresas como a *ABInBEV* (multinacional líder do mercado cervejeiro), existem cada vez mais micro-cervejeiras que tentam inovar e reinventar um produto com tantos séculos de existência. Por exemplo, segundo a *The Brewers of Europe*<sup>4</sup>, nos anos de 2009 a 2014, o número de cervejeiras na Europa aumentou de 3786 para 7094, o que demonstra que a produção cervejeira continua a ser uma atividade importante nos tempos modernos.

## **2. Revisão bibliográfica do processo de produção de cerveja**

### **2.1 Matéria-prima**

#### **2.1.1 Cereais**

Os grãos de cereais utilizados na produção cervejeira contêm polímeros que irão ser utilizados para germinarem. Esses polímeros são amido e proteínas, os quais durante a maltagem e a brassagem dão origem a compostos mais simples, nomeadamente péptidos, aminoácidos, dextrinas e outros açúcares de cadeias mais curtas<sup>2</sup>. São, portanto, os cereais que irão fornecer o substrato fermentativo às leveduras, e por isso, algumas das suas características são importantes, nomeadamente, a quantidade de metabolitos de interesse presentes nestes e a capacidade de, através da maltagem, converter os polímeros complexos<sup>2</sup>. O cereal mais utilizado para produção de cerveja é a cevada, uma vez que apresenta um alto teor de amido e, também, devido à sua estrutura ser interessante para a etapa de filtração, pois a sua casca permanece no grão mesmo depois de moído e será um bom filtro<sup>3</sup>. É comum, no entanto, a utilização de outros cereais como o trigo, o arroz, o centeio, a aveia e o milho. Os cereais podem ser adicionados sem serem previamente maltados, com o principal objetivo de reduzir custos ou conferir características sensoriais diferenciadoras às cervejas, sendo designados de adjuntos, necessitando, no entanto, de ser fervidos para solubilizar e gelatinizar o amido<sup>5</sup>.

Usando a cevada como exemplo pode-se falar acerca da constituição dos cereais antes da maltagem: cerca de 65% é amido, estando localizado em grânulos presentes nas células endospermicas<sup>3</sup>. O amido é composto por amilose e amilopectina que embora sejam ambos polímeros de glucose com ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,4, têm estrutura diferente. A amilopectina apresenta ramificações, que contêm ligações glicosídicas  $\alpha$ -1,6, enquanto a amilose tem estrutura linear, o que vai influenciar a facilidade com que são hidrolisadas pelas amílases. Cerca de 2% da constituição da cevada são açúcares simples como a sacarose, a glucose e a frutose, 5% é celulose, que é um polímero de cadeia longa de glucose. Este não é hidrolisado por enzimas presentes no grão (que degradam ligações glicosídicas  $\alpha$ ) uma vez que apresenta ligações glicosídicas  $\beta$ -1,4 e por isso não contribuirá para os açúcares que irão ser fermentados. Quanto à

## **Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas**

hemicelulose, esta corresponde a cerca de 7% e é composta por arabinoxilanas (cadeia longa de xilose com arabinose associada a alguns locais) e  $\beta$ -glucanas (cadeias longas de glucose), sendo que estes últimos podem ter um efeito negativo na cerveja se não ocorrer a sua quebra<sup>3</sup>. Em termos de conteúdo proteico, este corresponde a 11% e apenas cerca de um terço deste valor chega à cerveja final, sendo que maioritariamente são produtos da quebra de proteínas como peptonas, pequenos peptídeos e mesmo aminoácidos, pois devido à fervura e a enzimas proteolíticas as proteínas são hidrolisadas. No entanto, estes derivados proteicos são nutrientes essenciais para as leveduras e têm uma influência grande na turbidez e na retenção da espuma da cerveja<sup>3</sup>. Alguns cereais com conteúdo proteico mais elevado, como a aveia, são por vezes adicionados à brassagem para conferir maior quantidade de espuma à cerveja final, uma vez que aumentam o teor proteico do mosto, que, como referido anteriormente, será importante na manutenção e retenção da espuma final<sup>6</sup>. Quanto a lípidos, estes constituem cerca de 2% do conteúdo da cevada, sendo que estes são principalmente ácidos gordos. Os ácidos gordos de cadeia média podem ter efeitos negativos na retenção da espuma, no entanto, ácidos gordos insaturados podem ser importantes para as leveduras e para o envelhecimento dos sabores da cerveja<sup>3</sup>. Em relação à matéria inorgânica, a cevada contém cerca de 2%, principalmente silicatos, sais de potássio e fosfatos, que apesar de estarem presentes em pequenas quantidades são essenciais em várias reações que vão decorrer durante a fermentação<sup>3</sup>. De referir, ainda, a presença de vitaminas, polifenóis e enzimas, sendo que estas últimas serão produzidas em maior quantidade no processo de maltagem e irão ser cruciais para a produção de cerveja, uma vez que clivam o amido e proteínas dando origem a compostos mais simples que irão ser usados pelas leveduras<sup>3</sup>.

O processo de formação do malte (maltagem) a partir do cereal envolve três etapas, a primeira passa por molhar os grãos com água a uma temperatura de 10 °C a 15 °C<sup>5</sup>. A entrada e a dispersão de água são limitadas pelo tamanho do grão e pelo seu conteúdo em amido e proteínas<sup>7</sup>. Em seguida, os grãos ficam a germinar a uma temperatura entre 15 °C a 21 °C<sup>5</sup>. É nesta etapa da germinação que vai ser ativado o metabolismo com várias reações a ocorrer, entre as quais a respiração e síntese de ácido ribonucleico (RNA) (para formar proteínas de reserva e enzimas) e que vai culminar com a mobilização dos polímeros de reserva para dar seguimento ao crescimento da

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

planta<sup>8,9</sup>. O conteúdo em ácido giberélico vai aumentar nesta fase<sup>10</sup> e este fator vai ser importante para a produção de cerveja uma vez que este ácido é necessário para a formação de enzimas hidrolíticas<sup>2</sup>. A degradação dos compostos por estas enzimas vai ser limitada por três condições, a quantidade de água absorvida, o tipo e quantidade de enzimas formadas e ainda a capacidade de as enzimas entrarem em contacto com os compostos, sendo que estas condições variam de cereal para cereal<sup>2</sup>. Estas enzimas são, por exemplo, amílases  $\alpha$  e  $\beta$ , que vão hidrolisar o amido, e proteases<sup>5</sup>, sendo que algumas destas proteases já se encontram no grão antes da maltagem<sup>11</sup> e outras são produzidas com a germinação<sup>12</sup>. Por fim, a germinação é interrompida secando os grãos com temperaturas elevadas, parando todas as reações enzimáticas e químicas, obtendo-se grãos como os apresentados na **Figura 1**. Esta torra além de parar as reações pode também servir para introduzir cores e sabores na cerveja final<sup>5</sup>.



**Figura 1.** Exemplo de grãos maltados.

### 2.1.2 Lúpulo

O lúpulo é uma trepadeira cujas flores das plantas fêmea desenvolvem cones com grande teor de resinas amargas. Existem muitas variedades desta planta, que pode atingir alturas de 8 metros e a composição das suas flores varia consoante o tipo de lúpulo, o bom armazenamento, a altura da colheita e a secagem<sup>2</sup>.

Existem tipos de lúpulo mais propícios a serem usados como lúpulos que conferem amargor, contendo maior teor de resinas amargas (devem ser adicionados no

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

início da fervura) e outros mais propícios a serem usados como lúpulos que conferem outros aromas ou sabores, por exemplo florais e frutados, contendo menor teor de resinas amargas e maior teor de outros compostos, como o sesquiterpeno farneceno e o monoterpene linalol (devem ser adicionados perto do final da fervura ou já no fermentador)<sup>2,3</sup>. As resinas amargas são as responsáveis pelo amargor da cerveja, representam cerca de 18,5% do peso seco do lúpulo<sup>3,13</sup>, também ajudam na estabilização da espuma e conferem propriedades antibacterianas ao lúpulo. São constituídas por  $\alpha$  e  $\beta$  ácidos, tendo os  $\alpha$ -ácidos (humulona e seus homólogos), após a isomerização, a maior contribuição para o amargor da cerveja<sup>2,3</sup>. Dentro dos  $\alpha$ -ácidos a contribuição para o amargor pelos diferentes homólogos é variável, sendo a cohumulona a menos interessante e benéfica para o amargor da cerveja final<sup>3</sup>. Quanto a compostos associados a aromas do lúpulo, o seu peso seco é de cerca de 0,5%<sup>3,13</sup>, e é possível referir a presença de mirceno (que confere sabores desagradáveis<sup>3</sup>), farneceno, ésteres (associados a aromas frutados), epóxidos, geraniol e linalol<sup>2</sup>, sendo que este último é um dos grandes responsáveis pelo aroma floral de algumas variantes de lúpulo, e consequentemente de algumas cervejas<sup>14,15</sup>. Em relação a polifenóis, que representam cerca de 3,5% do peso seco<sup>3,13</sup>, os lúpulos utilizados para dar aromas têm maiores concentrações de polifenóis de baixa massa molecular, sendo que estes têm influência na estabilidade do sabor da cerveja pois impedem a oxidação da mesma<sup>2</sup>; os polifenóis de elevada massa molecular podem reduzir a estabilidade coloidal da cerveja e aumentar a turbidez, provocando alterações também ao nível da cor e sabor<sup>2</sup>. Um polifenol presente no lúpulo e na cerveja, ainda que em quantidades reduzidas, é o xanto-humol, que tem vindo a ser reportado como possuindo propriedades benéficas para a saúde nomeadamente, anticancerígenas, anti-inflamatórias e hepatoprotetoras<sup>16</sup>. O lúpulo contém ainda cerca de 20% de proteína, 8% de minerais, 15% de lípidos e 43% de celulose<sup>3,13</sup>.

Para produção cervejeira, o lúpulo pode ser utilizado como flor (**Figura 2**) ou pode utilizar-se um derivado deste, como por exemplo extratos líquidos ou *pellets* (**Figura 3**), que corresponde a lúpulo que foi triturado e compactado<sup>3</sup>. Estas formas alternativas de utilização do lúpulo conferem vantagens quer pela maior homogeneidade de compostos que estes produtos têm em comparação com as flores, quer pelo maior tempo de conservação das propriedades de interesse. No entanto deve proceder-se a um

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

armazenamento a baixas temperaturas e em embalagens seladas, evitando assim a perda de compostos de interesse devido a oxidações<sup>2,3</sup>.



Figura 2. Flor de lúpulo<sup>17</sup>.



Figura 3. Lúpulo em pellets

### 2.1.3 Leveduras

A levedura é um fungo unicelular anaeróbio facultativo, ou seja, pode realizar respiração aeróbia ou fermentação anaeróbia, dependendo se está na presença de oxigénio ou não. No fabrico de cerveja, este organismo é utilizado para converter o açúcar presente no mosto em etanol e dióxido de carbono<sup>3</sup>. As leveduras comumente utilizadas são do género *Saccharomyces*, podendo ser da espécie *Saccharomyces cerevisiae*, no caso da produção de *ales*, ou da espécie *Saccharomyces pastorianus*, no caso da produção de *lagers*, havendo diferentes estirpes de cada uma que podem ser usadas, conferindo características específicas às cervejas<sup>18</sup>. Algumas diferenças entre leveduras de alta e baixa fermentação podem ser apontadas como exemplo da diversidade dentro destes organismos: leveduras *S. cerevisiae* tendem a formar uma cadeia de células após a gemulação, não se separando da célula-mãe, enquanto leveduras *S. pastorianus* tendem a estar separadas ou em pares; *S. cerevisiae* apresenta maior conteúdo de enzimas que *S. pastorianus*; *S. pastorianus* tem capacidade de degradar completamente a rafinose, enquanto *S. cerevisiae* só degrada parcialmente; *S. cerevisiae* tem preferência por temperaturas superiores, sendo que a *S. pastorianus* opera a temperaturas inferiores<sup>2,3</sup>. Estes organismos reproduzem-se por gemulação, surgindo na superfície de uma levedura uma protuberância que se irá desenvolver e separar da célula original, dando origem a uma nova levedura<sup>3</sup>. A célula de levedura é

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

arredondada, sendo constituída maioritariamente por água. Em peso seco contém cerca de 60% de proteínas, 30% de hidratos de carbono, 4% de lípidos e 6% de minerais<sup>2,3</sup>.

Apesar da maioria das cervejas ser produzida com *Saccharomyces*, existem alguns tipos de cerveja, como as *Lambics*, que são propositadamente fermentadas espontaneamente por outros tipos de levedura e inclusive, na presença de bactérias produtoras de ácido láctico e ácido acético<sup>19</sup>. Estes estilos de cerveja são característicos de países como a Bélgica e a Alemanha.

Quanto ao crescimento descontínuo de uma cultura de leveduras, esta segue seis fases distintas, sendo que o tempo das fases depende do tipo de levedura, dos nutrientes do meio, do pH, da temperatura e do oxigénio presente<sup>3</sup>. A primeira fase é a fase *lag*, e é nesta que ocorre a ativação do metabolismo das células, havendo um aumento de volume das mesmas e esta fase culmina com a primeira divisão celular<sup>3</sup>. Em seguida ocorre a fase de aceleração, em que a formação de novas leveduras aumenta continuamente<sup>3</sup>. Posteriormente dá-se a fase exponencial ou *log*, sendo que a formação de novas células está no ritmo máximo e em que o seu metabolismo apresenta uma taxa de atividade maior<sup>3</sup>. Segue-se a fase de desaceleração, em que, devido à menor quantidade de nutrientes e maior quantidade de inibidores (produtos do metabolismo), o crescimento diminui, chegando a um estado estacionário<sup>3</sup>. Nesta fase estacionária, o número de células mantém-se constante, sendo que algumas leveduras morrem, surgindo novas células em igual quantidade<sup>3</sup>. Por fim, ocorre a última fase, que é a fase de declínio, sendo que as células vão morrer com maior rapidez do que são formadas novas<sup>3</sup>.

Na respiração aeróbia, a levedura utiliza glucose para gerar energia, oxidando-a até formar piruvato no citoplasma, sendo depois este piruvato convertido em acetil-coA que vai originar dióxido de carbono e água através do ciclo de Krebs e da fosforilação oxidativa que ocorrem na mitocôndria (**Figura 4**). Estes produtos finais apresentam baixo potencial energético, sendo por isso um processo bastante rentável para a célula, uma vez que a partir de uma molécula de glucose vão ser produzidas grandes quantidades de ATP.<sup>3,20</sup>



## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

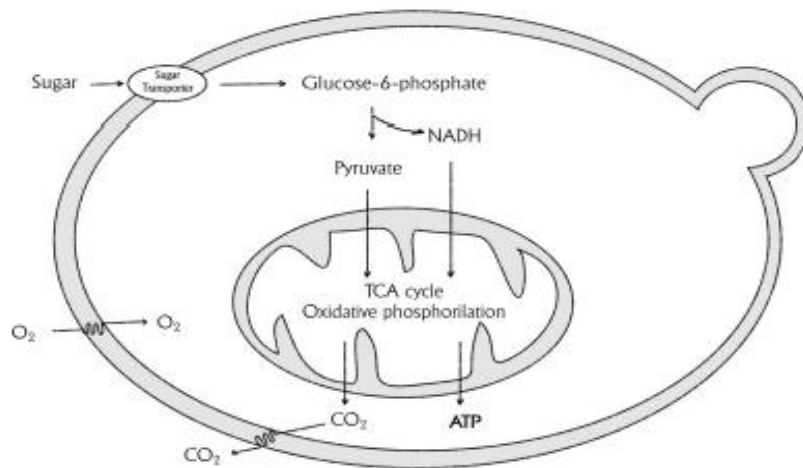


Figura 4. Respiração aeróbica. Retirado de Yeast: World's Finest Chef<sup>20</sup>.

Na fermentação (**Figura 5**), a glucose será também oxidada para gerar energia, dando origem a piruvato no citoplasma, que depois será, também nesse local, convertido em dióxido de carbono e acetaldeído o qual é depois reduzido a etanol<sup>3,20</sup>. Este processo não é tão completo em termos energéticos como a respiração, uma vez que o etanol possui um potencial energético maior que a água<sup>3</sup>.

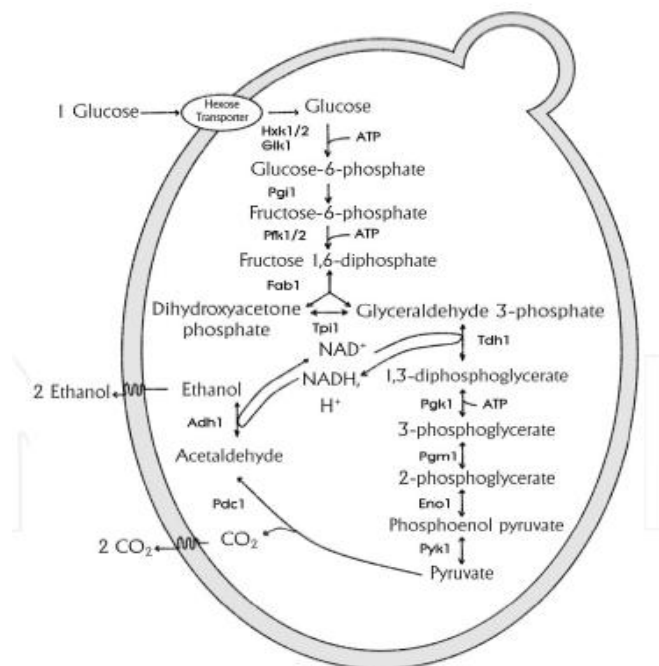


Figura 5. Fermentação alcoólica. Retirado de Yeast: World's Finest Chef<sup>20</sup>.

### 2.2 Processo produtivo

O processo de produção de uma cerveja pode variar nas técnicas utilizadas e até na execução ou não de algumas etapas. Algumas cervejeiras optam por não pasteurizar ou filtrar a cerveja após a fermentação, garantindo que esta permanece com leveduras e com compostos que seriam removidos nessas etapas. No entanto, a produção segue um padrão geral, tal como é apresentado no esquema seguinte (**Figura 6**).

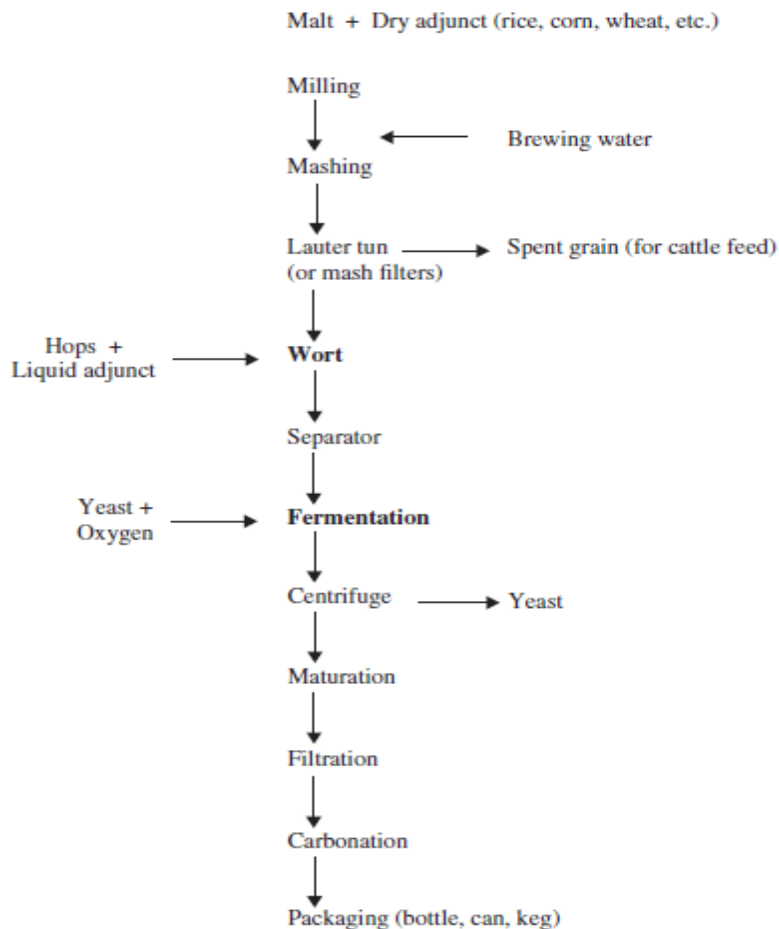


Figura 6. Exemplo de um processo produtivo retirado de Fundamentals of Food Biotechnology<sup>5</sup>.

#### 2.2.1 Moagem

A moagem tem como propósito a redução do tamanho do grão maltado, por dois principais motivos: o primeiro é para que a extração dos compostos do malte para a água de brassagem ocorra de forma mais eficiente e o segundo é para que as enzimas hidrolíticas que estão presentes no malte tenham maior acesso aos seus substratos<sup>2,3,21</sup>. A casca do grão deve ser mantida em boas condições, uma vez que será importante durante a filtração do mosto após a brassagem<sup>3</sup>.

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

Existem diferentes técnicas para realizar a moagem, nomeadamente moagem a seco, moagem húmida e moagem com condicionamento. A moagem a seco é a técnica mais utilizada e consiste na quebra do grão sem adição de humidade, usando um moinho de rolos (o grão passa entre rolos que vão quebrar o grão) (**Figura 7**) ou de martelos (o grão é empurrado contra uma placa, sendo esmagado)<sup>21</sup>.



Figura 7. Moinho de rolos.



Figura 8. Malte moído.

### 2.2.2 Brassagem e Separação do Mosto

A brassagem inicia-se com a junção do malte moído (**Figura 8**) com água, sendo que esta vai ativar as enzimas do malte que vão continuar as reações hidrolíticas que já tinham iniciado, em menor escala, na maltagem. Consoante a temperatura da água, o tempo a que a mistura permanece a essa temperatura e o pH, diferentes enzimas vão estar mais ou menos ativas, permitindo assim um controlo em termos da composição do mosto e das características da cerveja final como o teor alcoólico, a espuma, a cor e a turbidez<sup>2,21</sup>.

Existem dois métodos diferentes de brassagem, a infusão e a decocção. A infusão passa por ir aquecendo todo o volume de brassagem até determinadas temperaturas (rampas de temperatura). Por exemplo, começando por aquecer a mistura até 50 °C, deixando nesta temperatura cerca de 30 minutos para que ocorra a proteólise; em seguida aquecer até cerca de 65 °C e permanecer a esta temperatura durante 45 minutos para que ocorra a formação da maltose pela ação da  $\beta$ -amilase sobre o amido; seguidamente, aumentar a temperatura até 70 °C para que a  $\alpha$ -amilase possa atuar em

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

maior escala; finalmente terminar a brassagem nos 78 °C para inativar as enzimas e parar as reações<sup>21</sup>. No entanto, é possível não realizar determinadas rampas, ou encurtar o período de cada rampa, dependendo do tipo de cerveja a produzir e das características a ela associadas. A decocção implica transferir parte do volume de água para outro recipiente, onde vai ser aquecido até à fervura, sendo depois transferido de volta para a panela de brassagem, aquecendo o restante volume até à seguinte temperatura de interesse<sup>21</sup>.

Tal como na maltagem, algumas reações enzimáticas que irão ocorrer são reações de degradação de polissacarídeos das paredes celulares. Os substratos destas reações serão essencialmente as arabinoxilanas e as  $\beta$ -glucanas. As enzimas que as catalisam são, glucanases, xilanases e arabinosidases<sup>21</sup>. As glucanases, dependendo se clivam ligações  $\beta$ -1,3 ou  $\beta$ -1,4, terão temperaturas ótimas de 60 °C ou 40-45 °C, respetivamente, e originarão  $\beta$ -glucanas de baixa massa molecular<sup>2,21</sup>. Como referido anteriormente, se a quebra das  $\beta$ -glucanas não for efetuada corretamente, esses compostos trarão efeitos adversos à cerveja final, sendo que o principal desses efeitos será um aumento da viscosidade do líquido final. As xilanases, atuarão a uma temperatura de cerca de 45 °C, clivando a cadeia de xiloses das arabinoxilanas e originando resíduos de xilose<sup>21,22</sup>. Quanto às arabinosidases, a sua temperatura de ação será entre 40 °C a 50 °C, quebrando a cadeia de arabinoses das arabinoxilanas e dando origem a resíduos de arabinose<sup>21,22</sup>.

Em relação à hidrólise do amido é de referir a ação de quatro enzimas, nomeadamente  $\alpha$  e  $\beta$  amílases, dextrinase e maltase<sup>21</sup>. O amido, alvo destas enzimas, gelatiniza em água quente, perdendo a sua estrutura cristalina, sendo esta alteração irreversível<sup>23</sup> e ficando, assim, mais sujeito à ação destas enzimas. Grânulos de amido que tenham sido degradados enzimaticamente durante a maltagem ou mecanicamente durante a moagem estarão mais expostos à ação das enzimas, gelatinizando a temperaturas inferiores às de grânulos intactos. Além disso, grânulos de amido maiores estão mais sujeitos à ação das enzimas (devido à sua mais fácil gelatinização) que grânulos mais pequenos<sup>24</sup>. Diferentes tipos de  $\alpha$ -amílases têm sensibilidades diferentes à temperatura,  $\alpha$ -amílases termoestáveis operam mais eficientemente a temperaturas entre 70 °C a 75 °C, e vão quebrar ligações  $\alpha$ -1,4 ao acaso exceptuando em zonas

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

próximas das ramificações da amilopectina, dando origem a dextrinas<sup>21,25</sup>. Tal como acontece com as  $\alpha$ -amilases, diferentes  $\beta$ -amilases apresentam diferentes temperaturas ótimas, sendo que alguns tipos terão maior atividade com temperaturas entre 60 °C a 65 °C, quebrando ligações  $\alpha$ -1,4 mas apenas a partir do terminal não redutor das cadeias de amilose ou amilopectina, originando maltose, maltotriose e glucose e dextrinas limite (quando a sua ação ocorre perto das ramificações da amilopectina)<sup>21,26</sup>. A ação da  $\beta$ -amilase está bastante dependente da ação da  $\alpha$ -amilase, sendo que a  $\alpha$ -amilase ao clivar o interior da cadeia, vai produzir mais potenciais substratos para a  $\beta$ -amilase, pois vão estar disponíveis mais terminais não redutores<sup>27</sup>. Quanto à amiloglucosidase, esta requer temperaturas de 55 °C a 60 °C, quebrando a ligação  $\alpha$ -1,6 do amido e dando origem a dextrinas<sup>21,28</sup>. Por fim, a maltase opera em temperaturas entre 35 °C a 40 °C clivando a ligação da maltose e originando duas moléculas de glucose<sup>2,21</sup>.

Na brassagem, dependendo do estilo de cerveja que se pretende, podem ser usadas temperaturas mais altas (mais próximas de 70 °C) ativando mais as  $\alpha$ -amilases e diminuindo a ação das  $\beta$ -amilases, o que irá garantir maior presença de açúcares complexos que não serão utilizados pelas leveduras e permanecerão na cerveja final, conferindo alguma doçura à cerveja. Temperaturas mais baixas (cerca de 63-65 °C) podem ser usadas para aumentar a atividade das  $\beta$ -amilases, garantindo açúcares mais simples e consequentemente mais substrato para as leveduras, aumentando o teor alcoólico final. É também possível (tal como referido anteriormente) fazer diferentes rampas de temperatura, iniciando a temperaturas mais próximas das temperaturas ótimas das  $\beta$ -amilases, aumentando o teor de açúcares simples e, em seguida, subir a temperatura para próxima de 70 °C, permitindo aumentar os açúcares complexos que não serão convertidos pelas leveduras. Estas rampas de temperatura permitem a obtenção de cervejas equilibradas, apresentando elevado teor alcoólico e doçura residual como é o caso de alguns estilos de cervejas belgas, nomeadamente as *Belgian Strong Ale*.

A clivagem proteica, que dará origem a aminoácidos e pequenos péptidos também é ativada durante a brassagem, sendo que as principais enzimas a atuar são endopeptídases, aminopeptidases, carboxipeptidases e dipeptidases<sup>21</sup>. As endopeptídases, atuam preferencialmente entre 40 °C a 60 °C, clivando ligações no

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

interior de péptidos, resultando em péptidos menores<sup>2,21</sup>. As carboxipeptidases e as aminopeptidases, atuam na quebra de ligações nos terminais carboxilo e amino, respetivamente, formando aminoácidos, sendo que as suas temperaturas ótimas são de 50 °C a 60 °C, para as carboxipeptidases, e 40 °C a 45 °C para as aminopeptidases<sup>2,21</sup>. Quanto às dipeptidases, estas irão clivar ligações em dipéptidos, dando origem a duas moléculas de aminoácidos, tendo maior eficiência a temperaturas de 40 °C a 45 °C<sup>2,21</sup>.

Após a brassagem estar concluída (**Figura 9**), é necessário separar o mosto dos resíduos sólidos (o resto do grão). Este subproduto continua a conter compostos que podem ser interessantes, sendo que pode ser aproveitado para rações animais e para produção de bioetanol<sup>29</sup>. Esta etapa consiste numa filtração, em que inicialmente se retira o mosto, fazendo-se, em seguida, uma lavagem com água a uma temperatura elevada para extrair compostos que possam ter ficado adsorvidos ao grão<sup>3</sup>. Existem diferentes técnicas para realizar esta filtração, podendo ser referido o uso de um sistema de filtros ou de uma panela com o fundo já adaptado para filtrar o mosto dos grãos<sup>2,21</sup>.



Figura 9. Grão após brassagem.

### 2.2.3 Fervura

A fervura é uma etapa em que vários processos importantes ocorrem, sendo que é aqui que são adicionados os lúpulos. A esterilização do mosto é um deles, sendo que a fervura é capaz de destruir microorganismos e concluir a inativação de enzimas que tivessem permanecido ativas mesmo após o fim da brassagem<sup>21,30</sup>. Um dos principais processos é a formação dos iso- $\alpha$ -ácidos (**Figura 10**), que vão conferir o amargor, a

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

partir dos  $\alpha$ -ácidos que vão ser extraídos dos lúpulos<sup>21,30,31</sup>, sendo que lúpulos que vão conferir a maior parte destes ácidos devem ser adicionados perto do início da fervura. Alguns fatores afetam esta isomerização, sendo importante referir o tempo de fervura, o pH, a temperatura (temperaturas mais altas irão extrair melhor os compostos do lúpulo) e qual o produto de lúpulo utilizado (a extração em *pellets* ocorre mais facilmente que em flor)<sup>21,30,31</sup>. Quanto aos lúpulos que são adicionados por outras características, como conferir aromas específicos, como os compostos de interesse são voláteis, estes devem ser adicionados no final da fervura, como referido anteriormente<sup>3</sup>.

Também nesta etapa vão ocorrer reações de *Maillard* que produzem compostos que vão conferir aromas ou cores ao mosto, nomeadamente as melanoidinas, as quais resultam da reação de resíduos de proteína com açúcares redutores, podendo quando em excesso dar origem a sabores desinteressantes<sup>21,30</sup>. Algumas proteínas que possam não ter sido devidamente hidrolisadas sofrem desnaturação, agregação e precipitação, formando complexos com polifenóis, o que é importante para a qualidade da cerveja, garantindo uma boa estabilidade coloidal<sup>21,30</sup>. No entanto, uma precipitação exagerada destes compostos pode resultar numa má formação de espuma na cerveja final<sup>2</sup>.

Outros processos que ocorrem nesta etapa são a evaporação de água, concentrando mais o mosto, e a evaporação de substâncias voláteis indesejáveis, como por exemplo, o dimetilsulfureto, que pode trazer aromas e sabores associados a vegetais, o mircenol do lúpulo<sup>2</sup>, o furfural, que advém das reações de *Maillard* e produtos de degradação lipídica<sup>3</sup>. Também ocorre a acidificação do mosto, pelos ácidos do lúpulo, pelas melanoidinas e pela precipitação de alguns compostos alcalinos<sup>21,30</sup>. Esta acidificação vai contribuir para os processos de esterilização e de coagulação das proteínas<sup>3</sup>.

Apesar da importância desta etapa, são necessários alguns cuidados para que esta não danifique a qualidade da cerveja, formando ou decompondo alguns compostos que podem ser prejudiciais ou importantes para a cerveja final, respetivamente. Para que a qualidade não seja afetada, pode, por exemplo, reduzir-se o tempo de aquecimento até à fervura, reduzir-se também o tempo de fervura, evitar grandes subidas de temperatura durante a fervura, e reduzir-se o tempo de arrefecimento do mosto<sup>21</sup>.

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

No final da fervura é necessário separar o mosto dos compostos insolúveis e restos do lúpulo usado. Poderão utilizar-se diferentes técnicas, como a centrifugação, a sedimentação, e, a mais utilizada, a filtração<sup>21</sup>. É necessário também arrefecer o mosto, para que este possa estar a uma temperatura condizente com as leveduras que nele vão atuar, para tal poderá ser utilizado um permutador de placas, em que o mosto a altas temperaturas passa em direção contrária à água a baixas temperaturas, resultando num rápido decréscimo da temperatura do mosto. Este arrefecimento deve ser o mais rápido possível, evitando assim que microrganismos possam desenvolver-se durante o processo de arrefecimento<sup>3</sup>. O mosto deve também ser arejado para que possa conter oxigénio, permitindo que no início da fermentação as leveduras possam sintetizar compostos importantes para o seu desenvolvimento (como lípidos), garantindo que toda a fermentação ocorre da melhor forma possível<sup>3</sup>.

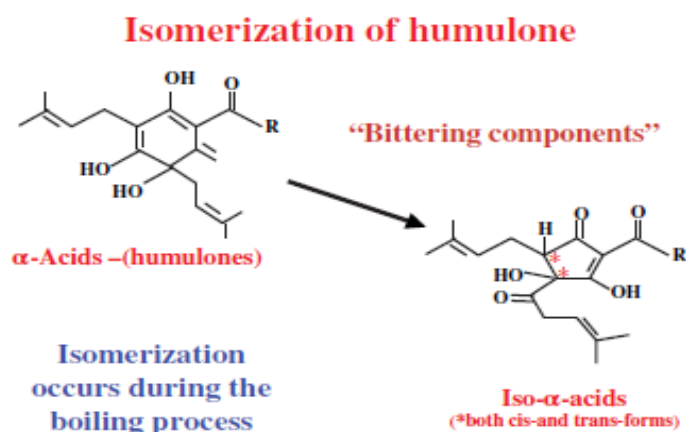


Figura 10. Isomerização dos  $\alpha$ -ácidos. Retirado de Fundamentals of Food Biotechnology<sup>5</sup>.

### 2.2.4 Fermentação e Maturação

Na fermentação além de ocorrer produção de energia e a formação de etanol e dióxido de carbono, outros componentes do metabolismo das leveduras são formados, sendo que estes podem conferir aromas e sabores à cerveja. Estas reações vão levar a várias mudanças no mosto original, nomeadamente, um decréscimo no pH, mudanças na composição (por exemplo, ocorre alguma precipitação de polifenóis e iso- $\alpha$ -ácidos) e mudanças no aspeto<sup>3</sup>.



## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

Inicialmente a levedura aproveita os açúcares e o oxigénio do mosto para realizar respiração aeróbia, produzindo grandes quantidades de energia. Com esta energia a levedura começa a biossíntese de metabolitos e a reproduzir-se. Para o seu desenvolvimento, este organismo necessita de consumir alguns componentes do mosto, além dos açúcares e do oxigénio, nomeadamente aminoácidos (para a síntese de proteínas), fosfato (formação de adenosina trifosfato (ATP) e membranas celulares), ácidos gordos (formação de membranas) e minerais<sup>3</sup>. Além de utilizar os açúcares para gerar energia, também os armazena, na forma de glicogénio e trealose, garantindo assim a sustentabilidade mesmo em caso de escassez de nutrientes<sup>3</sup>. Os açúcares são utilizados pelas leveduras numa sequência específica: primeiro é utilizada a glucose, em seguida a frutose, depois a maltose e finalmente a maltotriose, sendo que a utilização de maltose e maltotriose é reprimida por elevadas concentrações de glucose<sup>21</sup>.

Quando o oxigénio presente no mosto termina, a produção de energia centra-se na fermentação. A fermentação, tal como está patente na **Figura 5**, é um processo com várias reações intermediárias. A glucose é inicialmente fosforilada dando origem a glucose-6-fosfato por meio da enzima hexocinase na presença de ATP<sup>32</sup>. Esta glucose-6-fosfato irá ser isomerizada pela fosfohexose isomerase resultando em frutose-6-fosfato que sofrerá, também, uma fosforilação por ação da fosfofrutocinase, utilizando outra molécula de ATP e originando frutose-1,6-bisfosfato<sup>32</sup>. Este composto será clivado por uma aldolase, produzindo dihidroxiacetona-fosfato (DHAP) e gliceraldeído-3-fosfato, sendo que a DHAP é convertida noutra molécula de gliceraldeído-3-fosfato por uma isomerase<sup>32</sup>. Cada molécula de gliceraldeído-3-fosfato vai ser convertida em 1,3-bisfosfoglicerato, pela enzima gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase, na presença de fosfato inorgânico e de dinucleótido de nicotinamida e adenina oxidado ( $\text{NAD}^+$ )<sup>32</sup>. Posteriormente o 1,3-bisfosfoglicerato e uma molécula de adenosina difosfato (ADP) vão ser convertidos pela fosfoglicerato cinase em 3-fosfoglicerato e ATP, restabelecendo uma das moléculas de ATP anteriormente utilizadas<sup>32</sup>. O 3-fosfoglicerato será então isomerizado pela fosfoglicerato mutase originando 2-fosfoglicerato, que, por via da ação de uma enolase, resultará em fosfoenolpiruvato<sup>32</sup>. Finalmente este composto irá reagir com uma molécula de ADP, na presença da piruvato cinase, formando piruvato e ATP<sup>32</sup>. O conjunto de reações que decorrem desde a glucose até à formação de piruvato designam-se por glicólise, no entanto, o piruvato

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

não é o produto final da fermentação, ocorrendo ainda mais duas reações para que se forme o etanol. Primeiramente há a conversão do piruvato em acetaldeído e dióxido de carbono pela piruvato descarboxilase, seguindo-se a sua redução formando etanol, na presença de dinucleótido de nicotinamida e adenina reduzido (NADH) e  $H^+$ , a partir de acetaldeído pela álcool desidrogenase<sup>32</sup>.

A fermentação ocorre, também, na presença de oxigénio, sendo este fenómeno conhecido como efeito de *Crabtree*<sup>33</sup>. Tal efeito tem lugar quando a concentração de glucose no meio é elevada, sendo esta degradada através de fermentação, havendo inibição da síntese de enzimas respiratórias<sup>34</sup>, e por isso diminuição da taxa respiratória.

Quanto à produção de outros compostos que interferem com o aroma e sabor da cerveja, podemos referir o diacetilo, ésteres, aldeídos, compostos que contêm enxofre e outros álcoois além do etanol<sup>2,3</sup>. Alguns destes compostos influenciam benéficamente a qualidade sensorial da cerveja, nomeadamente os ésteres e álcoois, no entanto, os restantes compostos acima mencionados aportam efeitos adversos<sup>3</sup>. Ao longo da fermentação e maturação estes compostos vão ser produzidos na cerveja, sendo que muitos deles são removidos pelas leveduras durante a maturação. A remoção destes compostos é influenciada por fatores como a temperatura de fermentação e maturação, o pH e o bom arejamento do mosto<sup>3</sup>. Em relação aos compostos que têm efeitos adversos são de referir o diacetilo, o acetaldeído e compostos de enxofre. O diacetilo forma-se através de uma descarboxilação oxidativa a partir dos seus precursores (intermediários da síntese de aminoácidos) que são libertados para o mosto pelas leveduras, sendo que na maturação este composto prejudicial ao aroma da cerveja será reduzido pelas leveduras<sup>2,3</sup>. O principal aldeído libertado para o mosto é o acetaldeído, tendo a sua origem na glicólise, é o precursor do etanol e será reaproveitado pelas leveduras no decorrer da fermentação e maturação<sup>3</sup>. O principal composto contendo enxofre é o sulfureto de hidrogénio, tendo origem em aminoácidos que contêm enxofre na sua estrutura e, uma vez que é volátil, vai ser libertado do mosto<sup>3</sup>. Relativamente aos compostos benéficos para a cerveja são de salientar os álcoois com cadeias superiores, como por exemplo o propanol e o 2-metil-1-butanol, formados pelas leveduras a partir de aminoácidos, ocorrendo desaminação seguida de descarboxilação e redução<sup>2,3</sup>, e os ésteres, como por exemplo o acetato de etilo e o acetato de isobutilo, os quais são

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

compostos extremamente importantes para os aromas da cerveja e podem ser resultado da esterificação de ácidos gordos ou de álcoois<sup>2,3</sup>.

Após a fermentação e a maturação, a cerveja poderá ser pasteurizada e filtrada, no entanto, nem sempre são realizadas estas etapas, sendo que nalguns casos é essencial que a cerveja mantenha leveduras quando é engarrafada para que possa refermentar e adquirir o dióxido de carbono visto que este pode ser libertado do fermentador, não ficando dissolvido na cerveja.

### 2.3 Diversidade do produto

No mundo da cerveja a diversidade de produtos é muito grande como referido anteriormente. A inovação poderá originar a criação de um novo estilo (recentemente, em 2015, um novo estilo de cerveja foi reconhecido pelo *Beer Judge Certification Program* (BJCP), nomeadamente as *Italian Grape Ale*, cervejas de origem italiana com adição de uvas) ou o desenvolvimento de um novo produto dentro de um estilo já existente.

Existem vários estilos de cerveja, sendo que muitos deles apresentam sub-estilos. A título de exemplo, dentro das *Stout* (estilo de cerveja de cor escura, com adição de maltes de cevada altamente torrados) existem inúmeros sub-estilos, como por exemplo, *Sweet Stout*, *Oatmeal Stout*, *Imperial Stout*, *Foreign Extra Stout*<sup>35</sup>, sendo que todas apresentam características comuns mas diferenciam-se pela utilização de determinados ingredientes (é prática comum a adição de lactose às *Sweet Stout*<sup>35</sup>, conferindo uma doçura láctea à cerveja), ou pelas suas propriedades (intensidade da cor, intensidade do amargor, teor alcoólico).

Uma nova tendência na produção cervejeira é a maturação de cervejas em barricas anteriormente utilizadas para envelhecer outras bebidas (como rum, vinho do porto, whiskey), o que enriquece a cerveja, tornando-a mais complexa, sendo possível aplicar esta nova tendência a vários estilos de cerveja, desenvolvendo produtos únicos que apresentam características incomuns dentro do seu estilo.

A tão grande diversidade de estilos torna complexa a classificação e identificação destes, no entanto é possível apontar alguns destes estilos, como se apresenta no **Anexo 1**<sup>36</sup>, com informações baseadas nas diretrizes do BJCP<sup>35</sup>, sendo

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

estas diretrizes utilizadas como ferramenta de avaliação e classificação em concursos cervejeiros a nível mundial.

### 3. Desenvolvimento do trabalho na empresa

Ao longo do meu estágio desenvolvi várias atividades relacionadas com o dia-a-dia da empresa, nas quais pude contatar com a realidade de uma microcervejeira, e todo o trabalho associado a ela, desde a produção, ao engarrafamento, higienização do equipamento e rotulagem. A par dessas atividades, desenvolvi as cervejas que compõem a base do meu trabalho, uma *sour beer* do estilo *Gose* com adição de salicórnia e uma cerveja semelhante mas com adição de flor de sal para servir como ponto de comparação, uma cerveja com adição de framboesa e uma cerveja refermentada em garrafa utilizando levedura associada à produção de espumante, conferindo, assim, algumas características diferenciadoras à cerveja. Determinou-se o teor alcoólico das cervejas através dos valores de densidade e as cervejas foram posteriormente analisadas num laboratório do Departamento de Química da Universidade.

#### 3.1 Produção

No tocante à produção das cervejas, esta baseia-se no controlo de todas as etapas, seguindo as receitas (no total houve contato com sete receitas diferentes, à parte das cervejas específicas deste estágio, nomeadamente uma *Pilsner*, uma *Witbier*, uma *Hefeweizen*, uma IPA, uma *American IPA*, uma *Imperial Black IPA*, uma *Porter* e uma *American Pale Ale*) que são previamente delineadas utilizando um *software* cervejeiro, o *BeerSmith*<sup>37</sup>. Este *software* permite ter um maior controlo sobre as características das cervejas a produzir, sendo que é possível introduzir os ingredientes a utilizar e fazer ajustes por forma a obter uma estimativa das características pretendidas (grau alcoólico, amargor, cor). O programa indica, também, as temperaturas e tempos ótimos a serem utilizados durante a brassagem e a quantidade de água (e a sua temperatura) que deve ser adicionada na filtragem para conseguir remover os compostos adsorvidos ao grão e obter o volume de mosto necessário para a etapa de fervura. Na fervura, o programa indica a que tempos devem ser adicionados os ingredientes, como o lúpulo (ou outros que possam ser utilizados para conferir características aromáticas), para conferir o amargor ou características organoléticas pretendidas. O programa também informa

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

acerca de adições de ingredientes durante a maturação da cerveja, como é o caso de adições de lúpulos nesta etapa (*dry-hop*), o que permite conservar maior quantidade de compostos voláteis na cerveja do que se esta adição fosse efetuada na fervura.

O trabalho realizado na fase da produção envolveu a participação em todas as etapas, desde a pesagem e moagem do grão, ao controlo da temperatura da água de brassagem e adição dos cereais, separação do mosto e do grão e passagem do mosto para a panela de fervura, controlo do tempo de fervura e adição dos ingredientes, filtragem e arrefecimento do mosto e subsequente inoculação de leveduras secas no fermentador. No final da produção foi medida a densidade do produto utilizando um densímetro (escala de densidade graduada de 1.000 a 1.100, com menor divisão de escala de 0.002, calibrado a 20 °C), para uma relação com o teor inicial de açúcares, necessária para posterior cálculo do teor alcoólico.

A Cinco Chagas tinha na sua gama de produtos correntes seis cervejas diferentes, sendo que posteriormente foi criada uma edição especial que introduziu mais dois estilos diferentes. Esta variedade de produtos permitiu um contato com diferentes estilos de cerveja, e diferentes tipos de maltes, lúpulos e leveduras para a produção das mesmas. Quanto aos maltes, foi possível perceber a contribuição para aspetos como cor, aroma e sabor que diferentes tipos de cereal e diferentes graus de maltagem aportam na cerveja final, sendo que maltes com maior grau de maltagem (como maltes chocolate) conferem cores mais escuras e sabores torrados, com algumas notas a café e chocolate. Também em relação aos lúpulos foi possível a compreensão de características diferenciadores de vários tipos de lúpulo, sendo que alguns são menos complexos, como o *Saaz*, nos aromas e sabores que conferem às cervejas e outros apresentam maior intensidade e amplitude de aromas, por exemplo lúpulos como *Amarillo* e *Simcoe*. Por fim, quanto às leveduras, foi possível trabalhar com leveduras *Saccharomyces pastorianus* para a produção de cervejas *lager* e leveduras *Saccharomyces cerevisiae* na produção de cervejas *ale* e verificar as diferenças fermentativas das duas espécies (as *S. pastorianus* realizam fermentação a temperaturas inferiores durante mais tempo, enquanto as *S. cerevisiae* realizam fermentação a temperaturas mais altas e mais rapidamente). Foi também perceptível que diferentes estirpes de *S. cerevisiae* podem conferir diferentes particularidades às cervejas, sendo o exemplo mais evidente a estirpe

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

que é utilizada para produção de cervejas *Hefeweizen* (estilo de cervejas de trigo tipicamente alemãs), responsável pelo desenvolvimento de aromas a cravinho e banana, caraterísticos deste tipo de cervejas<sup>38</sup>. Uma das cervejas da marca é produzida com adição de outros ingredientes, nomeadamente sementes de coentros e casca de laranja, sendo um exemplo de que outras matérias primas podem ser adicionadas para obtenção de caraterísticas diferenciadoras.

Após o dia de produção, a densidade da cerveja foi medida durante a fermentação para verificar o estado da atenuação (decréscimo de densidade resultante do decréscimo da concentração de açúcares) e foi controlada a temperatura, evitando subidas acentuadas da mesma que pudessem interferir com os processos metabólicos das leveduras levando ao aparecimento de *off-flavours*. Posteriormente, as cervejas foram conservadas algum tempo dentro dos fermentadores a temperaturas inferiores (maturação), permitindo a precipitação do excesso de leveduras e a remoção de alguns compostos indesejáveis por parte da própria levedura, como referido no ponto **2.2.4** deste mesmo relatório. Ao fim deste tempo, a cerveja estava pronta para ser engarrafada, sendo medida a densidade final.

Para cálculo do teor alcoólico foram utilizadas as densidades medidas no fim do dia de produção (densidade inicial) e no fim da fermentação e maturação (densidade final). Visto que o densímetro se encontrava calibrado a 20 °C, a temperatura foi também medida, fazendo o ajuste à densidade medida mediante a temperatura registada. Para tal foi utilizada a **Equação 1**, que se apresenta seguidamente, obtida a partir do *site Brewer's Friend*<sup>39</sup>, originalmente formulada em Hall (1995)<sup>40</sup>:

$$(Eq. 1.) \quad ABV = \left( 76.08 \frac{(OG - FG)}{1.775 - OG} \right) * (FG / 0.794)$$

ABV- Álcool por volume; OG – Densidade inicial; FG – Densidade final

### 3.2 Higienização do material e equipamento

Em relação à higienização do material e equipamento foram utilizados desinfetantes apropriados para indústria alimentar, produtos da empresa Quimiserve<sup>41</sup>, sendo realizadas lavagens com detergente básico (produto *QMT*), e com detergente ácido (produto *NIFOS*), num processo de limpeza manual nalguns equipamentos, como

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

as painéis de brassagem e fervura, e integrado noutros, como os fermentadores, a bomba e o permutador de placas. Para higienização das garrafas e máquina de engarrafamento foi utilizado outro produto próprio para indústria alimentar, o *Star San HB* (Figura 11), produto da empresa *Five Star Chemicals & Supplies, Inc.*<sup>42</sup>. A higienização foi efetuada no fim da produção/ engarrafamento ou antes de cada nova produção e engarrafamento. Para uma rápida desinfecção de alguns materiais mais pequenos (pequenos tubos, colheres de plástico alimentar, tampas) foi utilizado álcool etílico.



Figura 11. Produto Star San HB, imagem retirada do site HomeBrewShop<sup>43</sup>.

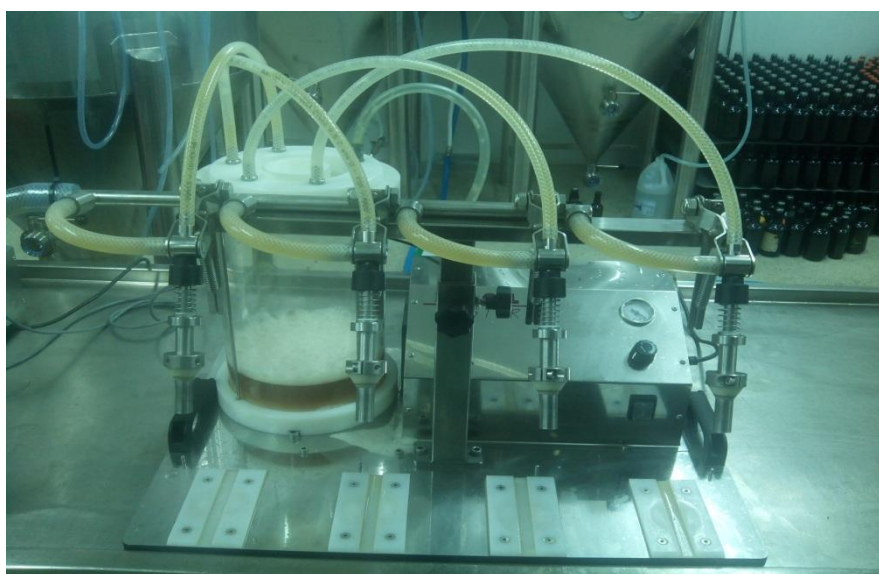
As garrafas foram higienizadas antes do enchimento, não sendo reutilizadas garrafas. Após a higienização foram colocadas em suportes para secarem, como se apresenta na Figura 12.



Figura 12. Secagem das garrafas após higienização.

### 3.3 Engarrafamento

No processo de engarrafamento, a cerveja sem dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) dissolvido foi colocada diretamente em garrafas previamente higienizadas, utilizando o equipamento de enchimento representado na **Figura 13**. Além das garrafas, algumas cervejas foram também colocadas em barris descartáveis de plástico, *KeyKegs*<sup>44</sup>, permitindo o fornecimento de cerveja artesanal à pressão para restaurantes e cafés. Esta cerveja não continha  $\text{CO}_2$  porque durante o processo fermentativo este era libertado do fermentador a partir de um tubo, permitindo a manutenção da pressão dentro do fermentador. Para que a cerveja adquira o  $\text{CO}_2$  é necessário a adição de uma solução açucarada, sendo esta colocada nos barris diretamente no processo de enchimento utilizando uma seringa e na garrafa por uma doseadora peristáltica que é previamente programada para adicionar a quantidade desejada, apresentada na **Figura 14**.



**Figura 13.** Equipamento de engarrafamento.

Depois de adicionada a solução açucarada à garrafa, a cerveja foi engarrafada através do equipamento de enchimento (**Figura 13**) que a retirava diretamente do fermentador e a encaminhava para a garrafa, retirando em primeiro lugar o ar presente na garrafa, evitando assim potenciais oxidações ou contaminações resultantes do contato da cerveja com o ar.



## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas



Figura 14. Doseadora peristáltica para adição de solução açucarada no processo de engarrafamento.

Por fim, foi adicionada a carga à garrafa através de um encapsulador (**Figura 15**), sendo que, posteriormente, estas permaneciam cerca de duas semanas numa câmara a cerca de 20 °C para que ocorresse fermentação no interior da garrafa, originando assim o CO<sub>2</sub>. Ao fim destas duas semanas o produto estava pronto a ser comercializado.



Figura 15. Encapsulador.

Ao longo das duas semanas em que as garrafas permaneceram a fermentar, foram abertas algumas amostras para avaliar o desenvolvimento do gás e, também, poder detetar a presença de *off-flavours* que pudessem comprometer a qualidade da cerveja pretendida pela empresa.

### 3.4 Outras atividades

Durante a minha estadia na empresa estive também envolvido noutras atividades menos ligadas à produção, mas relacionadas com o trabalho diário da empresa. Dentro

## **Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas**

dessas atividades são de destacar a rotulagem, a presença num festival de cerveja artesanal e a orientação de três visitas à empresa.

Em relação ao festival de cerveja artesanal, o *Aveiro Beer Fest*, estive presente num dos três dias do festival, podendo contactar com clientes (já conhecedores da marca ou não) e com outros cervejeiros presentes. Simultaneamente com o festival ocorreu o *IBEERian Awards 2017*, concurso com um painel treinado de provadores que classifica as diferentes cervejas enviadas para o concurso, atribuindo medalhas de ouro, prata e bronze para as três melhores cervejas dentro de cada estilo. Duas das cervejas específicas deste estágio (a cerveja que incorpora salicórnia e a sua versão com sal adicionado) foram enviadas para concurso, não tendo, no entanto, conquistado prémio. Das várias cervejas da Cinco Chagas, uma conquistou medalha de prata na sua categoria.

Quanto às visitas que orientei, duas delas foram realizadas por turmas de ensino superior e a terceira por um grupo de trabalhadores de uma empresa de adubos que se mostrou interessado em conhecer uma microcervejeira. Das duas turmas, uma era composta por alunos da licenciatura em Biotecnologia da Escola Superior Agrária de Coimbra e outra por alunos do Mestrado de Biotecnologia do Ramo Alimentar da Universidade de Aveiro, no âmbito da cadeira de Biotecnologia Alimentar Avançada, leccionada pelo meu orientador institucional, o Professor José Lopes da Silva. Em todas as visitas dei a conhecer o espaço e os equipamentos da cervejeira, expliquei todo o processo produtivo, apelando ao conhecimento científico dos grupos do ensino superior e, também, fazendo demonstrações das matérias primas e de algum etapa da produção. No final, foram dadas a provar diferentes cervejas da marca, tentando realçar a grande variedade e capacidade de inovação inerente ao universo da cerveja. Na visita da turma da Universidade de Aveiro, foram dadas a provar duas cervejas específicas deste estágio, a cerveja que incorpora salicórnia e a sua versão com sal adicionado, sendo que as apreciações do grupo serão discutidas mais à frente. Também na visita do grupo de trabalhadores da empresa de adubos foi dada a provar uma cerveja relativa ao estágio, sendo que neste caso foi a cerveja de fruta, nomeadamente framboesa, e as apreciações da degustação serão relatadas adiante neste relatório.

### 3.5 Desenvolvimento das cervejas relativas ao estágio

No desenvolvimento das cervejas do meu estágio foi importante o contato prévio com a produção das cervejas da marca para melhor compreensão das várias etapas e das várias matérias primas e a sua relação com as características pretendidas.

#### 3.5.1 Cerveja *Gose*

A primeira cerveja desenvolvida foi a cerveja do estilo *Gose* com adição de salicórnia. Aquando do seu desenvolvimento considerou-se interessante desenvolver uma versão desta cerveja que, em alternativa à incorporação da salicórnia, contivesse flor de sal, podendo servir como ponto de comparação em termos de aroma e sabor à cerveja com salicórnia. Para tal foi seguida a mesma receita, sendo que a única diferença foi relativa à incorporação de salicórnia ou flor de sal. A receita destas cervejas encontra-se em anexo (**Anexo 2**).

Este estilo de cerveja de trigo tem origem alemã e é caracterizado por conter sementes de coentros, ser salgado e com travo ácido<sup>45</sup>, uma vez que é utilizada água naturalmente salgada ou é adicionado sal e na fermentação destas cervejas é utilizado o método de fermentação espontânea, em que a cerveja é fermentada pela microflora do local, podendo estar presentes outros géneros de leveduras que não *Saccharomyces* (por exemplo, *Brettanomyces*) e mesmo bactérias produtoras de ácido láctico ou acético<sup>46</sup>, tendo este método de fermentação sido referido no ponto 2.3 deste relatório. Para evitar contaminações indesejáveis por microorganismos, este método de fermentação foi descartado na elaboração das cervejas relativas ao meu estágio, sendo utilizado uma estirpe de *S. cerevisiae* conhecida. Para tentar mimetizar o perfil *sour* característico deste tipo de cervejas foi adicionado à brassagem malte naturalmente acidificado por *Lactobacillus*<sup>47</sup>, correspondente a cerca de 15% do total de malte utilizado.

Quanto à adição de salicórnia, adquiriu-se sal verde, que consiste em salicórnia desidratada e triturada, facilitando a incorporação da mesma na fervura comparativamente com a planta no seu estado normal. A salicórnia é uma planta halófito que acumula sódio no seu organismo, sendo potencialmente interessante a sua utilização para fins alimentares como substituinte do sal pelas suas características nutricionais<sup>48</sup>. A concentração de sódio na planta é variável de espécie para espécie, sendo que, por exemplo, a espécie *Salicornia europaea* apresenta um valor de 12,9 g de

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

sódio por cada 100 gramas de peso seco e a espécie *Salicornia ramosissima*, presente em vários locais do país, apresenta um valor de 18,2 g de sódio por 100 gramas de peso seco<sup>48</sup>. Para a produção da cerveja com adição de flor de sal optou-se por adicionar 70 g de sal por 70 litros de cerveja (1g/L), e, para haver similaridade por motivos de comparação de sabor entre as duas cervejas, decidiu-se adicionar uma quantidade de sal verde que conferisse uma quantidade aproximada de sódio em relação à cerveja com adição de flor de sal. Tendo como base os valores por peso seco supracitados, e desconhecendo a espécie da salicórnia a ser utilizada, utilizou-se um valor intermédio dos valores, considerando-se assim 15 g de sódio por 100 gramas de peso seco. Na elaboração da cerveja foram então utilizadas cerca de 467 g de sal verde.

Quanto à comparação entre as duas cervejas realizada informalmente pelos provadores (alunos da Universidade de Aveiro que visitaram a empresa, colaboradores da empresa onde se realizou o estágio e outras pessoas) que provaram ambas, em termos de aroma, é de notar que as duas apresentaram aromas semelhantes, onde se nota a presença das sementes de coentros e da casca de lima. No sabor, no entanto, estas apresentaram diferenças, sendo que a salicórnia confere um amargor herbáceo no final de boca, enquanto a cerveja com adição de flor de sal tem um palato mais “*clean*”, sendo que nas duas é notório a presença das sementes de coentros e da casca de lima. Aquando da visita realizada pelo grupo de alunos da Universidade de Aveiro, como foi previamente mencionado, houve degustação das duas cervejas, sendo que a maioria das pessoas presentes revelou uma preferência pela cerveja com flor de sal, por não apresentar o amargor herbáceo, no entanto, algumas pessoas revelaram preferência pela cerveja com salicórnia exatamente pela presença do amargor, que confere uma maior complexidade à cerveja, sendo que parece potenciar os outros aromas e sabores da cerveja. Nas duas cervejas, a presença do perfil ácido/azedo proveniente do ácido láctico, que advém do malte acidificado, não foi muito notório quando comparativamente com outros exemplares deste estilo de cerveja, fazendo-se sobressair o perfil salgado.

### 3.5.2 Cerveja de fruta

A cerveja de fruta foi produzida com adição de framboesas, seguindo a receita apresentada no **Anexo 3**.

## **Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas**

Cervejas com adição de frutas são comuns, permitindo conferir à cerveja características que podem ser interessantes para apelar a públicos com preferência por paladares mais suaves do que em outros tipos de cerveja. A Cinco Chagas não apresenta na sua gama de produtos cerveja com adição de fruta (à exceção de uma cerveja com raspas de casca de laranja), sendo por isso um produto inovador para a marca e que, tal como as outras cervejas relativas ao meu estágio, poderá apresentar potencial para ser comercializada no futuro da empresa.

Esta cerveja de fruta foi efetuada com uma base de malte não muito intensa permitindo dar destaque aos aromas e sabores da fruta. Quanto à receita presente nos anexos, esta previa a adição de açúcar ao mosto visto que se pretendia uma cerveja com uma cor de tonalidades claras e a adição de mais malte iria escurecer a cerveja, não obstante pretendia-se uma cerveja que tivesse teor alcoólico de cerca de 5,2% e, por isso, a adição de açúcar permitiria manter a cor clara e daria substrato às leveduras (juntamente com os açúcares extraídos do malte usado) para atingir o teor alcoólico pretendido. No entanto, durante a brassagem a extração de açúcares terá sido mais eficiente do que o programa onde se desenvolveu a receita antecipava e a densidade original do mosto foi superior ao pretendido já com a adição de açúcares, por isso o passo de adição de açúcar ao mosto foi omitido na produção.

Relativamente à adição da fruta, as framboesas foram adicionadas apenas no fermentador, sendo que outra etapa onde também se pode efectuar este tipo de adições é a fervura. No entanto, a adição das framboesas na fervura foi descartada visto que as altas temperaturas poderiam afetar negativamente o perfil de aromas pretendido com a evaporação de compostos voláteis importantes para as características organoléticas. As framboesas foram apanhadas e congeladas logo de seguida, sendo que se encontravam congeladas aquando da sua adição ao fermentador, garantido que o desenvolvimento de algum microorganismo presente se tornasse inviável.

Quanto à degustação efetuada pelo terceiro grupo que realizou a visita à empresa, foi notório que o aroma da cerveja, com clara presença das framboesas, foi apreciado pelo grupo, sendo que no que ao sabor diz respeito houve alguns elementos que apontaram o amargor final como excessivo, uma vez que a acidez natural das framboesas parece potenciar o amargor proveniente do lúpulo no final de boca.

### 3.5.3 Cerveja pelo método champanhês

Quanto à cerveja produzida com aplicação do método champanhês, é uma versão diferente da anteriormente produzida pela marca, sendo a cerveja de base uma cerveja de estilo diferente. A receita utilizada encontra-se no **Anexo 4**.

A Cinco Chagas foi a primeira cervejeira em Portugal a lançar uma cerveja com aplicação do método champanhês, sendo produzida uma cerveja de base do estilo *Belgian Strong Ale*, um estilo com bastante doçura residual associada que advém de açúcares não convertidos para etanol pelas leveduras. A cerveja produzida durante este estágio teve como cerveja base uma IPA, cerveja caracterizada pela presença de bastante lúpulo, não só para conferir um amargor pronunciado mas também aromas florais e frutados provenientes de compostos voláteis dos lúpulos.

Na produção desta cerveja o método champanhês é aplicado após a obtenção da cerveja base, que é produzida aplicando as várias etapas de produção cervejeira anteriormente descritas neste relatório. Após a fermentação principal (no fermentador) a cerveja é maturada durante algum tempo a frio, o que permite a deposição quase total da levedura inicialmente usada. Seguidamente a cerveja sem o gás é transferida para as garrafas e é inoculada uma estirpe de levedura comumente usada na produção de espumantes, juntamente com uma solução altamente açucarada. As garrafas permanecem largos meses a maturar em cave, dispostas de gargalo para baixo permitindo a formação do gás e posterior deposição das leveduras e outras partículas no gargalo (este processo tem o nome de *rémuage*), clareando a cerveja<sup>49</sup>. No fim da maturação em cave, o gargalo é congelado e procede-se ao *degorgement*, que consiste na abertura da garrafa e a pressão do gás no líquido expulsará o precipitado congelado<sup>49</sup>, obtendo-se assim o produto final com características de cerveja e simultaneamente de espumante (elevada carbonatação e baixa turbidez do líquido).

Na cerveja produzida por este método foi adicionado açúcar na fermentação para que, tal como foi discutido em relação à cerveja de framboesa, houvesse um aumento do teor alcoólico sem adição de mais malte que escurecesse a cerveja. Foi também realizado *dry-hop*, que consiste na adição tardia de lúpulo, nomeadamente na etapa da fermentação em vez de se adicionar na fervura permitindo conservar um aroma mais

## **Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas**

intenso a lúpulo que devido às altas temperaturas da fervura se perderia em parte, com evaporação de compostos voláteis.

Esta cerveja permanece em desenvolvimento no sentido em que o processo de maturação em cave exige um período de tempo superior à duração do presente estágio, não estando o produto ainda finalizado.

### **3.6 Análises laboratoriais**

As cervejas foram analisadas no laboratório da Universidade, enriquecendo o meu estágio com uma componente laboratorial. As análises efetuadas foram a medição do pH antes e após a fermentação na garrafa, análise de açúcares redutores e análise de amargor por quantificação dos iso- $\alpha$ -ácidos. O teor alcoólico foi calculado através das densidades medidas e utilizando a **Equação 1**, presente no ponto **3.1** deste relatório.

A medição do pH antes e após fermentação na garrafa teve como propósito verificar se a aquisição de CO<sub>2</sub> durante a fermentação na garrafa iria alterar o valor de pH da cerveja. Quanto à análise dos açúcares redutores, visto que a empresa fermenta as suas cervejas na garrafa, achou-se interessante medir os açúcares redutores que prevaleciam após a fermentação principal (no fermentador) e que estariam disponíveis para a levedura na fermentação na garrafa. Esta análise poderá ser útil para o futuro da empresa, garantindo uma maior constância em termos de carbonatação das suas cervejas, evitando lotes muito discrepantes em termos de gás, discrepâncias essas que podem estar associadas a diferentes quantidades de açúcares redutores que permanecem na cerveja aquando do engarrafamento. Por fim, a análise de amargor tinha como propósito a classificação das cervejas numa escala de unidades de amargor, a escala IBU (*International Bittering Units*), a partir da quantificação das espécies responsáveis pelo amargor, no entanto, não foi possível a obtenção de resultados com esta análise, potencialmente devido a uma baixa estabilidade espectral por parte do reagente utilizado. Apresentam-se de seguida os protocolos utilizados.

#### **3.6.1 Métodos e materiais**

##### **3.6.1.1 Análise dos açúcares redutores**

Esta análise foi realizada seguindo o protocolo descrito por Pai et al. (2015)<sup>50</sup>, com algumas modificações.

## **Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas**

Recolheram-se 6 amostras de cada uma das quatro cervejas, antes da fermentação em garrafa, sendo que o conteúdo de açúcares quantificado corresponderá assim ao resultante após a fermentação principal e maturação. As amostras foram centrifugadas a 3000 rpm durante 15 minutos, garantindo a deposição de leveduras e outro material em suspensão que pudesse afetar a leitura de absorvância.

Diluíram-se as amostras centrifugadas, utilizando-se um fator de diluição de 10x. Em seguida, 1,00 mL da amostra diluída foi colocada num tubo de ensaio, ao qual se adicionou 2,00 mL de ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS), tendo-se colocado os tubos de ensaio em banho de água a 100 °C durante 5 minutos. Após os 5 minutos, os tubos de ensaio foram colocados em gelo, parando a reação e adicionou-se 10,00 mL de água destilada a cada tubo de ensaio. Por fim, leu-se a absorvância de cada amostra a 540 nm. Os resultados obtidos serão apresentados mais à frente neste relatório.

Foi construída uma curva de calibração com 6 padrões de maltose, sendo que as concentrações utilizadas foram 0,50 mg/mL, 1,00 mg/mL, 2,00 mg/mL, 3,00 mg/mL, 4,00 mg/mL e 5,00 mg/mL. Para tal, foi pesado 750 mg de maltose e colocou-se num balão volumétrico com 150,00 mL de capacidade, ao qual se adicionou água destilada, tendo preparado o padrão correspondente à concentração de 5,00 mg/mL. A partir deste padrão prepararam-se os restantes padrões, em balões volumétricos de 50,00 mL, transferindo o volume necessário de solução-mãe (padrão com concentração de 5,00 mg/mL) e perfazendo os 50,00 mL com água destilada.

### **3.6.1.2 Análise do amargor**

A análise ao amargor foi realizada usando como base o protocolo descrito por Howard (1968)<sup>51</sup>.

Foram recolhidas 6 amostras de cada uma das quatro cervejas tendo-se centrifugado as amostras em tubos de Falcon durante 15 minutos a 3000 rpm, para depositar partículas, como as leveduras, que pudessem interferir com as leituras de absorvância.

Em seguida, 3,00 mL de cada amostra centrifugada foram colocados num novo tubo de Falcon, no qual se adicionou 0,30 mL de ácido clorídrico 3N e 6,00 mL de 2,2,4-trimetilpentano (iso-octano). A mistura foi centrifugada durante 15 minutos a



## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

3000 rpm para que ocorresse separação de fases, com migração dos iso- $\alpha$ -ácidos (responsáveis pelo amargor) para a fase orgânica. Seguidamente a fase orgânica foi colocada numa cuvette e procedeu-se à leitura de absorvância a 275 nm, utilizando como branco o reagente iso-octano.

Como referido anteriormente, não se obtiveram resultados viáveis com esta determinação, potencialmente por baixa estabilidade espectral do iso-octano utilizado, uma vez que os valores do branco oscilavam bastante.

### 3.6.2 Resultados e discussão

Em termos de resultados, serão apresentados de seguida os valores obtidos quanto às medições das densidades do mosto e o valor do teor alcoólico calculado a partir destas, os valores de pH antes e após refermentação em garrafa e os valores da análise aos açúcares redutores.

#### 3.6.2.1 Valores de densidades e teor alcoólico

A densidade inicial do mosto foi medida após a produção de cada cerveja e antes da passagem para o fermentador, repetindo-se a medição após a fermentação principal, considerando este último valor como a densidade final (**Tabela 1**). O teor alcoólico de cada cerveja foi determinado com base nos valores de densidade de acordo com a **Equação 1**. Este valor foi diferente do previsto nas receitas devido a uma extração mais eficiente de açúcares durante a brassagem, aumentando o substrato para as leveduras e consequentemente aumentando o etanol produzido.

**Tabela 1. Valores de densidade do mosto e respetivo teor alcoólico de cada uma das 4 cervejas.**

Cerveja	Densidade Inicial	Densidade Final	Teor alcoólico
Salicórnica	1.044	1.005	5,14%
Sal	1.064	1.015	6,70%
Framboesa	1.049	1.006	5,71%
Cerveja pelo método champanhês	1.071	1.002	9,41%

Devido à longa maturação em cave e à adição de uma solução altamente açucarada é de prever que a cerveja refermentada pelo método champanhês irá ainda aumentar consideravelmente o seu teor alcoólico, sendo que a versão anteriormente desenvolvida pela marca continha um teor alcoólico a rondar os 11%-13%.

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

Os valores de teor alcoólico das quatro cervejas são usuais quer em termos de cervejas produzidas regularmente pela marca quer em termos do universo de cervejas artesanais, existindo grande heterogeneidade em termos de teor alcoólico, havendo produtos com baixo teor de álcool e outros com elevado teor (na gama de cervejas da empresa, o teor alcoólico dos vários produtos oscila entre 4,5% e 13%). Existem no mercado cervejas com valores alcoólicos ainda mais elevados, sendo que muitas das vezes o propósito é inovar e atingir novos patamares, como é o caso em cervejas que têm teores a rondar os 50%.

### 3.6.2.2 Valores de pH antes e após refermentação

O pH foi medido em cada uma das quatro cervejas, tendo sido medido em amostras antes da fermentação em garrafa (não tendo CO<sub>2</sub> dissolvido) e após a fermentação em garrafa (já com CO<sub>2</sub> presente). Os valores de pH apresentam-se na **Tabela 2**.

**Tabela 2.** Valores de pH antes e após refermentação em garrafa das 4 cervejas.

Amostras	pH pré-refermentação	pH pós-refermentação
Sal	4,25	4,23
Salicórnia	4,07	4,02
Framboesa	3,80	3,77
Cerveja pelo método champanhês	4,21	XXX

Ao contrário do inicialmente esperado, a produção de CO<sub>2</sub> não acidificou consideravelmente as cervejas, havendo no entanto uma ligeira diminuição de pH em cada. No caso da cerveja desenvolvida pelo método champanhês, o valor de pH final não foi medido uma vez que, tal como mencionado anteriormente, esta ainda não se encontra finalizada, sendo a sua maturação prolongada, no entanto será de esperar que haja uma maior diminuição de pH nesta cerveja devido à maior carbonatação final que esta terá relativamente às outras cervejas.

### 3.6.2.3 Valores da análise dos açúcares redutores

Inicialmente construiu-se uma curva de calibração usando os valores de concentrações e de absorvâncias a 540 nm dos 6 padrões de maltose mencionados no ponto **3.6.1.1**. Apresenta-se de seguida os valores referentes aos padrões (**Tabela 3**) e o gráfico da curva de calibração respetiva, com a equação da reta (**Gráfico 1**).

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

Tabela 3. Valores de concentração e absorvância dos padrões de maltose.

Padrão	0	1	2	3	4	5
Concentração (mg/mL)	0,5010	1,002	2,004	3,005	4,007	5,009
Absorvância	0,272	0,471	0,843	1,209	1,489	1,822

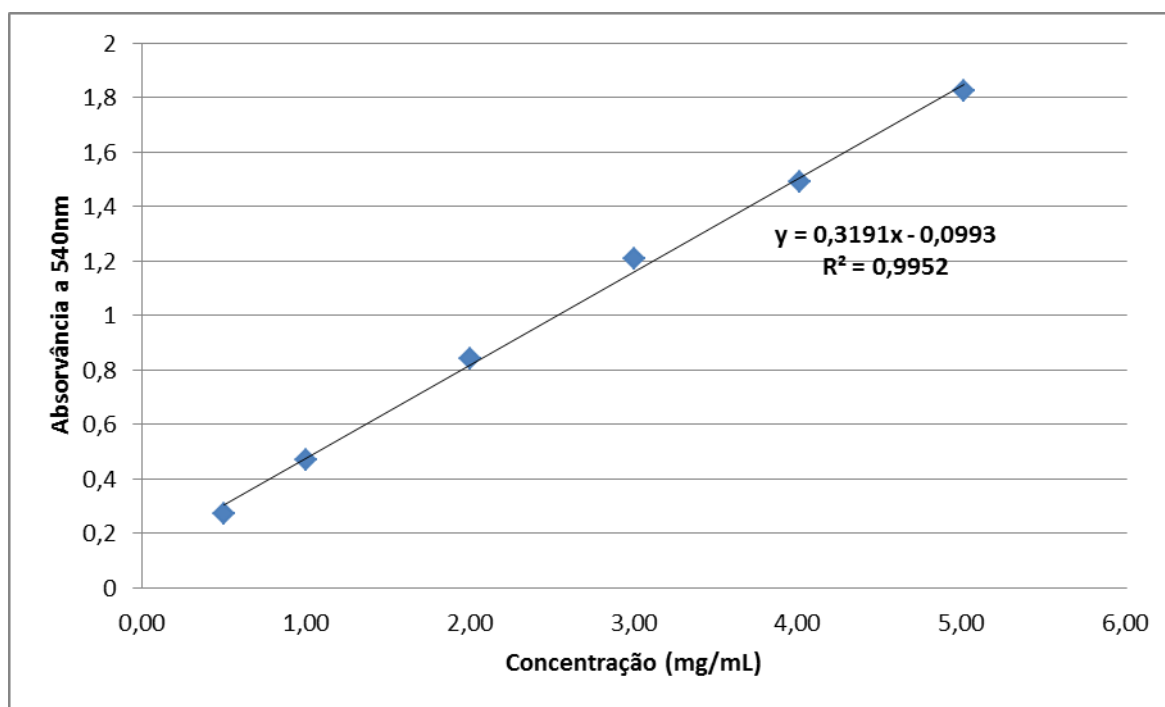


Figura 16. Gráfico dos valores de absorvância (540 nm) dos padrões em função da sua concentração (mg/mL).

Após a obtenção da curva de calibração utilizou-se a equação da reta resultante para, através dos valores de absorvância das várias amostras de cada cerveja (**Anexo 5**), calcular a concentração de açúcares redutores presentes nas amostras correspondentes a cerveja após a fermentação principal (antes de engarrafamento). Os valores médios de concentração de açúcares redutores e desvios padrão de cada cerveja encontram-se listados na **Tabela 4**. O princípio desta técnica baseia-se no facto de o DNS reagir com o grupo carbonilo livre dos açúcares redutores, produzindo um composto que absorve radiação a 540 nm<sup>52</sup>. No entanto, nem todos os açúcares quantificados na análise dos açúcares redutores são utilizáveis pela levedura, sendo que açúcares demasiado complexos que possam reagir com o DNS não serão fermentáveis e por isso não serão substratos para a produção do CO<sub>2</sub> que ocorre na refermentação em garrafa. Estes valores são, por isso, valores aproximados para o teor de açúcares que pode contribuir para a refermentação em garrafa.

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

Tabela 4. Valores médios das concentrações de açúcares redutores nas cervejas e respetivo desvio padrão.

Amostras	Média [açúcares redutores] (mg/mL)	Desvio Padrão
Sal	23,6	0,474
Salicórnia	14,7	0,332
Framboesa	15,1	0,238
Cerveja Método Champanhês	18,5	0,245

É de notar que a cerveja com maior concentração média de açúcares redutores foi a cerveja com adição de flor de sal (23,6 mg/mL), seguindo-se a cerveja refermentada pelo método champanhês (18,5 mg/mL), a cerveja com adição de framboesa (15,1 mg/mL) e, por último, a cerveja com adição de salicórnia (14,7 mg/mL). Esta diferença entre as várias cervejas, mesmo entre cervejas com a mesma receita, como é o caso da cerveja com adição de flor de sal e de salicórnia, poderá estar ligada com a eficiência da brassagem (na extração de açúcares com clivagem do amido, diferentes temperaturas vão afetar de forma diferente a atividade das enzimas), com a utilização de diferentes maltes (maltes diferentes possuem diferentes teores de amido), com a utilização de diferentes estirpes de levedura (diferentes leveduras poderão apresentar diferentes taxas de conversão dos açúcares), com o controlo de temperaturas na fermentação (diferentes temperaturas fermentativas influenciarão o metabolismo das leveduras de forma diferente).

### 4. Conclusão do Relatório de Estágio

O trabalho aqui descrito teve dois objetivos centrais, um dos quais visava a aquisição de competências na produção cervejeira, desde a compreensão das várias etapas pelas quais se obtém o produto final e os fenómenos que nelas ocorrem até a compreensão das diferentes matérias primas e dos diferentes produtos possíveis de obter. O outro objetivo era a produção de três cervejas, sendo inovadoras, ou pela utilização de matérias primas não comumente utilizadas na produção de cerveja (como a salicórnia) ou por inexistência de um produto similar na atual gama de produtos da empresa, como a cerveja de fruta. Os dois objetivos foram cumpridos, tendo sido um estágio bastante enriquecedor, permitindo contactar com a realidade

## **Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas**

empresarial dentro do universo da cerveja artesanal e adquirir competências para a exigência do mercado de trabalho.

Quanto aos produtos obtidos e ao trabalho realizado, a empresa demonstrou satisfação pelos objetivos atingidos, sendo que as cervejas desenvolvidas poderão vir a ser produzidas para serem comercializadas como edições especiais ou sazonais no futuro.

## 5. Referências

1. UNESCO. Beer culture in Belgium. at <<http://www.unesco.org/culture/ich/en/RL/beer-culture-in-belgium-01062>>  
Consultado em: 16-01-2017
2. Esslinger, H. M. *Handbook of Brewing*. Weinheim : Wiley-VCH. **1**, 1-746 (2009).
3. Wolfgang Kunze. *Technology Brewing and Malting*. VLB Berlin. **3**, 1-948 (2004).
4. Van de Walle, M. *Beer Statistics. The Brewers of Europe*. 1-36 (2015).
5. Lee, B. H. *Fundamentals of Food Biotechnology. Statewide Agricultural Land Use Baseline 2015* **1**, 1-549 (2015).
6. Schnitzenbaumer, B. & Arendt, E. K. Brewing with up to 40% unmalted oats (*Avena sativa*) and sorghum (*Sorghum bicolor*): A review. *J. Inst. Brew.* **120**, 315–330 (2014).
7. Molina-Cano, J.-L., Sopena, A., Polo, J.P., Bergareche, C., Moralejo, M.A., Swanston, J.S. & Glidewell, S.M. Relationships between barley hordeins and malting quality in a mutant of cv. Triumph. II. Genetic and environmental effects on water uptake. *J. Cereal Sci.* **36**, 39–50 (2002).
8. Bewley, J. Seed germination and dormancy. *Plant Cell* **9**, 1055–1066 (1997).
9. Bove, J., Jullien, M. & Grappin, P. Functional genomics in the study of seed germination. *Genome Biol.* **3**, 1002–1 (2001).
10. Thomas, S. G. & Sun, T. Update on gibberellin signaling. A tale of the tall and the short. *Plant Physiol.* **135**, 668–676 (2004).
11. Müntz, K., Belozersky, M. A., Dunaevsky, Y. E., Schlereth, A. & Tiedemann, J. Stored proteinases and the initiation of storage protein mobilization in seeds during germination and seedling growth. *J. Exp. Bot.* **52**, 1741–1752 (2001).

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

12. Jones, B. L. Endoproteases of barley and malt. *J. Cereal Sci.* **42**, 139–156 (2005).
13. Almaguer, C., Schonberger, C., Gastl, M., Arendt, E. K. & Becker, T. Humulus lupulus - a story that begs to be told. A review. *J. Inst. Brew.* **120**, 289–314 (2014).
14. Hanke, S. Linalool — A key contributor to hop aroma. *MBAA - Glob. Emerg. Issues* (2009).
15. Inui, T., Tsuchiya, F., Ishimaru, M., Oka, K. & Komura, H. Different beers with different hops. Relevant compounds for their aroma characteristics. *J. Agric. Food Chem.* **61**, 4758–4764 (2013).
16. Weiskirchen, R., Mahli, A., Weiskirchen, S. & Hellerbrand, C. The hop constituent xanthohumol exhibits hepatoprotective effects and inhibits the activation of hepatic stellate cells at different levels. *Front. Physiol.* **6**, 140 (2015).
17. Wikipedia - Hops. at <<https://en.wikipedia.org/wiki/Hops>> Consultado em: 19-10-2017
18. Bokulich, N. A. & Bamforth, C. W. The microbiology of malting and brewing. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **77**, 157–172 (2013).
19. Spitaels, F., Wieme, A.D., Janssens, M., Aerts, M., Daniel, H.M., Van Landschoot, A., De Vuyst, L. & Vandamme, P. The microbial diversity of traditional spontaneously fermented lambic beer. *PLoS One* **9**, (2014).
20. Faria-Oliveira, F., Puga, S. & Ferreira, C. Yeast : world’s finest chef. *Food Ind.* 519–547 (2013).
21. Willaert, R. *Section V. Beverages: The beer brewing process: wort production and beer fermentation. Handbook of Food Products Manufacturing* **1**, 443-506 (2006).

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

22. Debyser, W., Delvaux, F. & Delcour, J. A. Activity of arabinoxylan hydrolyzing enzymes during mashing with barley malt or barley malt and unmalted wheat. *J. Agric. Food Chem.* **46**, 4836–4841 (1998).
23. Chen, P., Yu, L., Simon, G.P., Liu, X., Dean, K. & Chen, L. Internal structures and phase-transitions of starch granules during gelatinization. *Carbohydr. Polym.* **83**, 1975–1983 (2011).
24. Bathgate, B. G. N. & Palmer, G. H. The in vivo and in vitro degradation of barley and malt starch granules. *J. Inst. Brew.* **79**, 402-406 (1973).
25. Macgregor, A. W.  $\alpha$ -Amylase, limit dextrinase, and  $\alpha$  - glucosidase enzymes in barley and malt. *CRC Crit. Rev. Biotechnol.* **5**, 117–128 (1987).
26. Kaplan, F. & Guy, C. L.  $\beta$ -amylase induction and the protective role of maltose during temperature shock. *Plant Physiol.* **135**, 1674–1684 (2004).
27. Ziegler, P. Cereal beta-amylases. *J. Cereal Sci.* **29**, 195–204 (1999).
28. Hopkins, R. H. & Wiener, S. Limit dextrinase: Ii. action of limit dextrinase in brewing. *J. Inst. Brew.* **61**, 493–500 (1955).
29. White, J. S., Yohannan, B. K. & Walker, G. M. Bioconversion of brewer's spent grains to bioethanol. *FEMS Yeast Res.* **8**, 1175–1184 (2008).
30. Willaert, R., Willaert, R. G. & Baron, G. V. Wort boiling today – boiling systems with low thermal stress in combination with volatile stripping. *Cerevisia.* **26**, 217-230 (2001).
31. Kappler, S., Krah, M., Geissinger, C., Becker, T. & Krottenthaler, M. Degradation of iso- $\alpha$ -acids during wort boiling. *J. Inst. Brew.* **116**, 332–338 (2010).
32. Berg J. M. & Tymoczko J. L. Glycolysis is an energy-conversion pathway in many organisms in *Biochemistry. 5th edition* (ed. Freeman, W. H.) (2002). at <[www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22593/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22593/)>



## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

33. Hagman, A., Säll, T. & Piškur, J. Analysis of the yeast short-term Crabtree effect and its origin. *FEBS J.* **281**, 4805–4814 (2014).
34. De Deken, R. H. The Crabtree Effect: a regulatory system in yeast. *J. Gen. Microbiol.* **44**, 149–156 (1966).
35. Beer Judge Certification Program. at <<https://www.bjcp.org/>> Consultado em: 18-10-2017
36. Winning Homebrew. at <<http://www.winning-homebrew.com/beer-style-chart.html>> Consultado em: 18-10-2017
37. BeerSmith. at <<http://www.beersmith.com/>> Consultado em: 11-08-2017
38. Coghe, S., Benoot, K., Delvaux, F., Vanderhaegen, B. & Delvaux, F. R. Ferulic acid release and 4-vinylguaiacol formation during brewing and fermentation: indications for feruloyl esterase activity in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Agric. Food Chem.* **52**, 602–608 (2004).
39. ABV Calculator - Brewer's Friend. at <<https://www.brewersfriend.com/abv-calculator/>> Consultado em: 22-08-2017
40. Hall, M. L. Brew by the numbers - add up what's in your beer. *Zymurgy* (1995).
41. Quimiserive. at <<http://www.quimiserive.pt/pt/>> Consultado em: 23-08-2017
42. Fiver Star Chemicals and Supply, Inc. at <<http://www.fivestarchemicals.com/>> Consultado em: 23-08-2017
43. HomeBrewShop. at <<https://homebrewshop.be/en/cleaning-products/487-five-star-san-hb-236-ml.html>> Consultado em: 23-08-2017
44. KeyKeg. at <<https://www.keykeg.com/en/home>> Consultado em: 24-08-2017
45. Beaumont, S. & Webb, T. World Atlas of Beer: the essential guide to the beers of the world. *Sterling Epicure*. 1-272 (2016).


## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

46. Rogers, C. M., Veatch, D., Covey, A., Staton, C. & Bochman, M. L. Terminal acidic shock inhibits sour beer bottle conditioning by *Saccharomyces cerevisiae*. *Food Microbiol.* **57**, 151–158 (2016).
47. Castle Malting - Malt Specification. at <http://www.castlemalting.com/CastleMaltingMaltSpecification.asp?Command=QualityParameters2&SpecificationID=143&CropYear=2012&Language=English>  
> Consultado em: 25-08-2017
48. Julião, M. R. A. Avaliação do potencial da *Salicornia ramosissima* para saladas frescas ou e pó (sal verde). Universidade do Algarve, 1-208 (2013).
49. Andrews, S. Textbook Of Food & Beverage Management. Tata McGraw-Hill Education, 1-588 (2007).
50. Pai, T. V., Sawat, S.Y., Ghatak, A. A., Chaturvedi, P. A., Gupte, A. M. & Desai, N.S. Characterization of Indian beers: chemical composition and antioxidant potential. *J. Food Sci. Technol.* **52**, 1414–1423 (2015).
51. Howard, G. A. Institute of brewing analysis committee estimation of the bitterness of beer. *J. Inst. Brew.* **74**, 249–251 (1968).
52. Negrulescu, A., Patrulea, V., Mincea, M. M., Ionascu, C., Vlad-Oros, B. A. & Ostafe, V. Adapting the reducing sugars method with dinitrosalicylic acid to microtiter plates and microwave heating. *J. Braz. Chem. Soc.* **23**, 2176–2182 (2012).

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

### Anexos

#### Anexo 1 – Compêndio de diferentes estilos de cerveja.

<div> <div>Winning-Homebrew</div> <div>BJCP Beer Style Chart</div>  </div>									
BEER STYLE	BJCP Style #	2015 BJCP CATEGORY	EST Original Gravity RANGE	EST Final Gravity RANGE	%ABV RANGE	IBU RANGE	Median Style Color	Color Range SRM	Carbonation Volumes CO <sup>2</sup>
Altbier	7B	Amber Bitter European Beer	1.044-1.052	1.008-1.014	4.3-5.5	25-50		11-17	2.16 - 3.09
American Amber Ale	19A	Amber & Brown American Beer	1.045-1.060	1.010-1.015	5.5-6.2	25-40		10-17	2.26 - 2.78
American Barleywine	22C	Strong American Ale	1.080-1.120	1.016-1.030	8-12	50-100		10-19	1.3 - 2.3
American Brown Ale	19C	Amber & Brown American Beer	1.045-1.060	1.010-1.016	4.3-6.2	20-30		18-35	2.26 - 2.78
American IPA	21A	IPA	1.056-1.070	1.008-1.014	5.5-7.5	40-70		6-14	2.0 - 2.5
American Lager	1B	Standard American Beer	1.040-1.050	1.004-1.010	4.3-5.3	8-18		2-4	2.57 - 2.73
American Light Lager	1A	Standard American Beer	1.028-1.040	0.998-1.008	2.8-4.2	8-12		2-3	2.57 - 2.73
American Pale Ale	18B	Pale American Ale	1.045-1.060	1.010-1.015	4.5-6.2	30-50		5-10	2.26 - 2.78
American Porter	20A	American Porter & Stout	1.050-1.070	1.012-1.018	4.8-6.5	25-50		22-40	2.5 - 3.0
American Stout	20B	American Porter & Stout	1.050-1.075	1.010-1.012	5-7	35-75		30-40	2.5 - 3.0
American Strong Ale	22B	Strong American Ale	1.062-1.090	1.014-1.024	6.3-10	50-100		7-19	2.0 - 2.25
American Wheat Beer	1D	Standard American Beer	1.040-1.055	1.008-1.013	4-5	15-30		3-6	2.3 - 2.6
Baltic Porter	9C	Strong European Beer	1.060-1.090	1.016-1.024	6.5-9.5	20-40		17-30	2.2
Belgian Blond Ale	25A	Strong Belgian Ale	1.062-1.075	1.008-1.018	6-7.5	15-30		4-7	3.0 - 4.0
Belgian Dark Strong Ale	26D	Trappist Ale	1.075-1.110	1.010-1.024	8-12	20-35		12-22	3.3 - 4.0
Belgian Dubbel	26B	Trappist Ale	1.062-1.075	1.008-1.018	6-7.6	15-25		10-17	3.0 - 4.0
Belgian Golden Strong Ale	25C	Strong Belgian Beer	1.070-1.095	1.005-1.016	7.5-10.5	22-35		3-6	3.0 - 4.0
Belgian IPA	21b	IPA	1.058-1.080	1.008-1.01	6.2-9.5	50-100		5-15	2.5
Belgian Pale Ale	24B	Belgian Ale	1.048-1.054	1.010-1.014	4.8-5.5	20-30		8-14	2.5
Belgian Tripel	26C	Trappist Ale	1.075-1.085	1.008-1.014	7.5-9.5	20-40		4.5-7	3.0 - 4.0
Berliner Weisse	23A	European Sour Ale	1.028-1.032	1.003-1.006	2.8-3.8	3-8		2-3	3.5 - 4.0
Best Bitter	11B	British Bitter	1.040-1.048	1.008-1.012	3.8-4.6	25-40		8-16	0.75 - 1.3
Biere de Garde	24C	Belgian Ale	1.060-1.080	1.008-1.016	6-8.5	18-28		6-19	3.3
Black IPA	21B	IPA	1.050-1.085	1.010-1.018	5.5-9	50-90		25-40	1.5 - 2.3
Blonde Ale	18A	Pale American Ale	1.038-1.054	1.008-1.013	3.8-5.5	15-28		3-6	2.3 - 2.6
Brett Beer	28A	American Wild Ale	1.020-1.090	1.00-1.016	2-10	5-50		2-50	Varies
British Brown Ale	13B	Brown British Beer	1.040-1.052	1.008-1.013	4.2-5.4	20-30		12-22	1.5 - 2.3

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

British Golden Ale	12A	Pale Commonwealth Beer	1.038-1.053	1.006-1.012	3.8-5	20-45		2-6	1.5 - 2.3
British Strong Ale	17A	Strong British Ale	1.055-1.080	1.015-1.022	5.5-8	30-60		8-22	1.5 - 2.3
Brown IPA	21B	IPA	1.056-1.070	1.008-1.016	5.5-7.5	4-70		11-19	1.5 - 2.3
California Common	19B	Amber & Brown American Beer	1.048-1.054	1.011-1.014	4.5-5.5	30-45		10-14	2.4 - 2.8
Classic Style Smoked Beer	32A	Smoked Beer	1.020-1.090	1.006-1.016	2-10	5-50		2-50	2.16 - 2.57
Cream Ale	1C	Standard American Beer	1.042-1.055	1.006-1.012	4.2-5.6	8-20		2.5-5	2.6 - 2.7
Czech Amber Lager	3C	Czech Lager	1.044-1.060	1.013-1.017	4.4-5.8	20-35		10-16	2.0 - 2.5
Czech Dark Lager	3D	Czech Lager	1.044-1.060	1.013-1.017	4.4-5.8	18-34		14-35	2.0 - 2.5
Czech Pale Lager	3A	Czech Lager	1.028-1.044	1.008-1.014	3-4.1	20-35		3-6	2.0 - 2.5
Czech Premium Lager	3B	Czech Lager	1.044-1.060	1.013-1.017	4.2-5.8	30-45		3.5-6	2.0 - 2.5
Dark Mild	13A	Brown British Beer	1.030-1.038	1.008-1.013	3-3.8	10-25		12-25	1.3 - 2.0
Doppelbock	9A	Strong European Beer	1.072-1.112	1.016-1.024	7-10	16-26		6-25	2.26 - 2.62
Double IPA	22A	Strong American Ale	1.065-1.085	1.008-1.018	7.5-10	20-27		6-14	2.0 - 2.5
Dunkles Bock	6C	Amber Malt European Lager	1.064-1.072	1.013-1.019	6.3-7.2	20-27		14-22	2.4
Dunkles Weissbier	10B	German Wheat Beer	1.044-1.056	1.010-1.014	4.3-5.6	10-18		14-23	3.6 - 4.48
Eisbock	9B	Strong European Beer	1.078-1.120	1.020-1.035	9-14	25-35		18-30	2.37
English Barleywine	17D	Strong British Ale	1.080-1.120	1.018-1.030	8-12	35-70		8-22	1.3 - 2.3
English IPA	12c	Pale Commonwealth Beer	1.050-1.075	1.010-0.018	5-7.5	40-60		6-14	1.5 - 2.3
English Porter	13C	Brown British Beer	1.040-1.052	1.008-1.014	4-5.4	18-35		20-30	1.7 - 2.5
Festbier	4B	Pale Malt European Lager	1.054-1.057	1.010-1.012	5.8-6.3	18-25		4-7	2.57 - 2.73
Flanders Red Ale	23B	European Sour Ale	1.048-1.057	1.002-1.012	4.6-6.5	10-25		10-16	2.0 - 2.5
Foreign Extra Stout	16D	Dark British Beer	1.056-1.075	1.010-1.018	6.3-8	50-70		30-40	2.3 - 2.6
Fruit Beer	29A	Fruit Beer	1.020-1.090	1.006-1.016	2-10	5-50		2-50	2.0 - 3.0
Fruit Lambic	23F	European Sour Ale	1.040-1.060	1.000-1.010	5-7	0-10		3-7	2.6 - 4.5
Fruit & Spice Beer	29B	Fruit Beer	1.020-1.090	1.006-1.016	2-10	5-50		2-50	2.0 - 3.0
German Helles Exportbier	5C	Pale Bitter European Beer	1.048-1.056	1.010-1.015	4.8-6	20-30		4-7	2.16 - 2.73
German Leichtbier	5A	Pale Bitter European Beer	1.026-1.034	1.006-1.010	2.4-3.6	15-28		2-5	2.16 - 2.73
German Pils	5D	Pale Bitter European Beer	1.044-1.050	1.008-1.013	4.4-5.2	22-40		2-5	2.3 - 2.5
Gose	27	Historical Beer	1.036-1.056	1.006-1.010	4.2-4.8	5-12		3-4	3.3 - 4.5
Gueuze	23E	European Sour Ale	1.040-1.060	1.000-1.006	5-8	0-10		3-7	3.0 - 4.5
Helles Bock	4C	Pale Malt European Lager	1.064-1.072	1.011-1.018	6.3-7.4	23-35		6-11	2.16 - 2.73
Imperial Stout	20C	American Porter & Stout	1.075-1.115	1.018-1.030	8-12	50-90		30-40	1.5 - 2.3
International Amber Lager	2B	international Lager	1.042-1.055	1.008-1.014	4.6-6	8-25		7-14	2.5
International Dark Lager	2C	international Lager	1.044-1.056	1.008-1.012	4.2-6	8-20		14-22	2.21 - 2.66
International Pale Lager	2A	international Lager	1.042-1.050	1.008-1.012	4.6-6	18-25		2-6	2.0 - 2.5
Irish Extra Stout	15C	Irish Beer	1.052-1.062	1.010-1.014	5.5-6.5	35-50		25-40	2.3 - 2.6
Irish Red Ale	15A	Irish Beer	1.036-1.046	1.010-1.014	3.8-5	18-28		9-14	2.0 - 2.5
Irish Stout	15B	Irish Beer	1.036-1.044	1.007-1.011	4-4.5	25-45		25-40	1.0 - 1.5
Kentucky Common	27	Historical Beer	1.044-1.055	1.010-1.018	4-5.5	15-30		11-20	2.2 - 2.5
Kolsch	5B	Pale Bitter European Beer	1.044-1.050	1.007-1.011	4.4-5.2	18-30		3.5-5	2.42 - 2.73



## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

Lambic	23D	European Sour Ale	1.040-1.054	1.001-1.010	5-6.5	0-10		3-7	3.0 - 4.45
Lichtenhainer	27	Historical Beer	1.032-1.040	1.004-1.008	3.5-4.7	5-12		3-6	2.2 - 2.5
Mixed Fermentation Sour Beer	28B	American Wild Ale	1.020-1.090	1.000-1.016	2-10	5-50		2-50	Varies
Munich Dunkel	8A	Dark European Lager	1.048-1.056	1.010-1.016	4.5-5.6	18-28		14-28	2.21 - 2.66
Munich Helles	4A	Pale Malt European Lager	1.044-1.048	1.006-1.012	4.7-5.4	16-22		3-5	2.26 - 2.68
Marzen	6A	Amber Malt European Lager	1.054-1.060	1.010-1.014	5.8-6.3	18-24		8-17	2.57 - 2.73
Oatmeal Stout	16B	Dark British Beer	1.045-1.065	1.010-1.018	4.2-5.9	25-40		22-40	2.0 - 2.4
Old Ale	17B	Strong British Ale	1.055-1.088	1.015-1.022	5.5-9	30-60		10-22	1.5 - 2.3
Ordinary Bitter	11A	British Bitter	1.030-1.039	1.007-1.011	3.2-3.8	25-35		8-14	0.75 - 1.3
Oud Bruin	23C	European Sour Ale	1.040-1.074	1.008-1.012	4-8	20-25		15-22	2.0 - 2.5
Pale Kellerbier	7C	Amber Bitter European Beer	1.045-1.051	1.008-1.012	4.7-5.4	20-35		3-7	2.16 - 4.09
Piwo Grodziskie	27	Historical Beer	1.028-1.032	1.006-1.012	2.5-3.3	20-35		3-6	2.2 - 2.5
Pre-Prohibition Porter	27	Historical Beer	1.046-1.060	1.010-1.016	4.5-6	20-30		18-30	2.2 - 2.5
Rauchbier	6B	Amber Malt European Lager	1.050-1.057	1.012-1.016	4.8-6	20-30		12-22	2.16 - 2.57
Red IPA	21B	IPA	1.056-1.070	1.008-1.016	5.5-7.5	40-70		11-19	2.0 - 2.5
Roggenbier	27	Historical Beer	1.046-1.056	1.010-1.014	4.5-6	10-20		14-19	2.2 - 2.5
Rye IPA	21B	IPA	1.056-1.075	1.008-1.014	5.5-8	50-75		6-14	2.0 - 2.5
Sahti	27	Historical Beer	1.076-1.120	1.016-1.020	7-11	7-15		4-22	2.2 - 2.5
Saison	25B	Strong Belgian Ale	1.048-1.065	1.002-1.008	3.5-9.5	20-35		5-22	3.0 - 3.5
Schwarzbier	8B	Dark European Lager	1.046-1.052	1.010-1.016	4.5-5.4	20-30		17-30	2.2 - 2.6
Scottish Export	14C	Scottish Ale	1.040-1.060	1.010-1.016	3.9-6	15-30		13-22	0.75 - 1.3
Scottish Heavy	14B	Scottish Ale	1.035-1.040	1.010-1.015	3.2-3.9	10-20		13-22	0.75 - 1.3
Scottish Light	14A	Scottish Ale	1.030-1.035	1.010-1.013	2.5-3.2	10-20		17-22	0.75 - 1.3
Specialty Fruit Beer	29C	Fruit Beer	1.020-1.090	1.006-1.016	2-10	5-50		2-50	2.2 - 2.5
Specialty IPA	21B	IPA	1.050-1.085	1.008-1.018	3-10	40-100		5-40	2.2 - 2.5
Specialty Smoked Beer	32B	Smoked Beer	1.020-1.090	1.006-1.016	2-10	5-50		2-50	2.16 - 2.57
Specialty Wood Aged Beer	33B	Wood Beer	1.020-1.090	1.006-1.016	2-10	5-50		2-50	2.2 - 2.5
Spice, Herb or Vegetable Beer	30A	Spiced Beer	1.020-1.090	1.006-1.016	2-10	5-50		2-50	2.0 - 3.0
Strong Bitter	11C	British Bitter	1.048-1.060	1.010-1.016	4.6-6.2	30-50		8-18	0.75 - 1.3
Sweet Stout	16A	Dark British Beer	1.044-1.060	1.012-1.024	4-6	20-40		30-40	2.0 - 2.4
Trappist Single	26A	Trappist Ale	1.044-1.054	1.004-1.010	4.8-6	25-45		3-5	3.0 - 3.5
Tropical Stout	16C	Dark British Beer	1.056-1.075	1.010-1.018	5.5-8	30-50		30-40	2.3 - 2.6
Vienna Lager	7A	Amber Bitter European Beer	1.048-1.055	1.010-1.014	4.7-5.5	18-30		9-15	2.0 - 2.5
Wee Heavy	17C	Strong British Ale	1.070-1.130	1.018-1.040	6.5-10	17-35		14-25	1.5 - 2.3
Weissbier	10A	German Wheat Beer	1.044-1.052	1.010-1.014	4.3-5.6	8-15		2-6	3.6 - 4.48

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas


### Anexo 2 – Receita das cervejas com adição de salicórnia e flor de sal.

## Gose / Salicórnia

Gose (27 )

**Type:** All Grain  
**Batch Size:** 70,00 l  
**Boil Size:** 81,42 l  
**Boil Time:** 60 min  
**End of Boil Vol:** 75,92 l  
**Final Bottling Vol:** 67,00 l  
**Fermentation:** Ale, Two Stage

**Date:** 29 Sep 2016  
**Brewer:** Cinco Chagas  
**Asst Brewer:**  
**Equipment:** Teste 70L  
**Efficiency:** 75,00 %  
**Est Mash Efficiency:** 78,2 %  
**Taste Rating:** 30,0



**Taste Notes:**

### Ingredients

Amt	Name	Type	#	%/IBU
6,06 kg	WhiteSwaen (5,1 EBC)	Grain	1	48,9 %
2,75 kg	Swaen Pilsner (3,8 EBC)	Grain	2	22,2 %
1,93 kg	(pt) CHATEAU ACID (9,5 EBC)	Grain	3	15,6 %
1,65 kg	Oats, Flaked (2,0 EBC)	Grain	4	13,3 %
82,62 g	Saaz [3,75 %] - Boil 60,0 min	Hop	5	11,9 IBUs
70,00 g	Sea Salt (Boil 10,0 mins)	Flavor	6	-
50,00 g	Raspa de Lima (Boil 10,0 mins)	Flavor	7	-
75,00 g	Coriander Seed (Boil 10,0 mins)	Spice	8	-
3,0 pkg	Safale American (DCL/Fermentis #US-05) [50,28 ml]	Yeast	9	-

### Gravity, Alcohol Content and Color

**Est Original Gravity:** 1,042 SG  
**Est Final Gravity:** 1,008 SG  
**Estimated Alcohol by Vol:** 4,5 %  
**Bitterness:** 11,9 IBUs  
**Est Color:** 7,1 EBC

**Measured Original Gravity:** 1,046 SG  
**Measured Final Gravity:** 1,010 SG  
**Actual Alcohol by Vol:** 4,7 %  
**Calories:** 427,1 kcal/l

### Mash Profile

**Mash Name:** Single Infusion, Light Body, No Mash Out  
**Sparge Water:** 66,52 l  
**Sparge Temperature:** 75,6 C  
**Adjust Temp for Equipment:** TRUE

**Total Grain Weight:** 12,39 kg  
**Grain Temperature:** 22,2 C  
**Tun Temperature:** 22,2 C  
**Mash PH:** 5,20

### Mash Steps

Name	Description	Step Temperature	Step Time
Mash In	Add 32,31 l of water at 72,4 C	65,6 C	75 min

**Sparge:** Fly sparge with 66,52 l water at 75,6 C  
**Mash Notes:** Simple single infusion mash for use with most modern well modified grains (about 95% of the time).

### Carbonation and Storage

**Carbonation Type:** Bottle  
**Pressure/Weight:** 394,09 g  
**Keg/Bottling Temperature:** 21,1 C  
**Fermentation:** Ale, Two Stage

**Volumes of CO2:** 2,3  
**Carbonation Used:** Bottle with 394,09 g Corn Sugar  
**Age for:** 30,00 days  
**Storage Temperature:** 18,3 C

### Notes

Created with BeerSmith

## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

### Anexo 3 – Receita da cerveja com adição de framboesas.

## Framboesa\_1

Fruit Beer (29 A)

**Type:** All Grain  
**Batch Size:** 70.00 l  
**Boil Size:** 81.42 l  
**Boil Time:** 60 min  
**End of Boil Vol:** 75.92 l  
**Final Bottling Vol:** 67.00 l  
**Fermentation:** Ale, Two Stage

**Date:** 30 Sep 2016  
**Brewer:** Cinco Chagas  
**Asst Brewer:** Daniel Vidal  
**Equipment:** Teste 70L  
**Efficiency:** 75.00 %  
**Est Mash Efficiency:** 78.4 %  
**Taste Rating:** 30.0



**Taste Notes:**

### Ingredients

Amt	Name	Type	#	%/IBU
11.50 kg	(pt) CHATEAU PILSEN 2RS (1.5 SRM)	Grain	1	80.7 %
1.45 kg	Swaen Vienna (4.6 SRM)	Grain	2	10.2 %
0.90 kg	Oats, Flaked (1.0 SRM)	Grain	3	6.3 %
0.40 kg	Corn Sugar (Dextrose) (0.0 SRM)	Sugar	4	2.8 %
85.00 g	Willamette [5.50 %] - Boil 60.0 min	Hop	5	17.2 IBUs
67.00 g	Willamette [5.50 %] - Boil 15.0 min	Hop	6	6.7 IBUs
67.00 g	East Kent Goldings (EKG) [5.00 %] - Boil 5.0 min	Hop	7	2.5 IBUs
4.0 pkg	Safbrew BE-256 (ABBAYE) (DCL/Fermentis #BE-256)	Yeast	8	-
5.00 kg	Raspberry Puree (Secondary 14.0 days)	Flavor	9	-

### Gravity, Alcohol Content and Color

**Est Original Gravity:** 1.048 SG  
**Est Final Gravity:** 1.009 SG  
**Estimated Alcohol by Vol:** 5.2 %  
**Bitterness:** 26.4 IBUs  
**Est Color:** 3.1 SRM

**Measured Original Gravity:** 1.046 SG  
**Measured Final Gravity:** 1.010 SG  
**Actual Alcohol by Vol:** 4.7 %  
**Calories:** 427.1 kcal/l

### Mash Profile

**Mash Name:** Single Infusion, Light Body, No Mash Out  
**Sparge Water:** 64.17 l  
**Sparge Temperature:** 75.6 C  
**Adjust Temp for Equipment:** TRUE

**Total Grain Weight:** 14.25 kg  
**Grain Temperature:** 22.2 C  
**Tun Temperature:** 22.2 C  
**Mash PH:** 5.20

### Mash Steps

Name	Description	Step Temperature	Step Time
Mash In	Add 36.12 l of water at 72.4 C	65.6 C	75 min

**Sparge:** Fly sparge with 64.17 l water at 75.6 C

**Mash Notes:** Simple single infusion mash for use with most modern well modified grains (about 95% of the time).

### Carbonation and Storage

**Carbonation Type:** Bottle  
**Pressure/Weight:** 394.09 g  
**Keg/Bottling Temperature:** 21.1 C  
**Fermentation:** Ale, Two Stage

**Volumes of CO2:** 2.3  
**Carbonation Used:** Bottle with 394.09 g Corn Sugar  
**Age for:** 30.00 days  
**Storage Temperature:** 18.3 C

### Notes

Created with BeerSmith



## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

### Anexo 4 - Receita da cerveja produzida pelo método champanhês.

## Brut 2015\_white IPA

Specialty IPA (21 B)

**Type:** All Grain  
**Batch Size:** 70.00 l  
**Boil Size:** 81.42 l  
**Boil Time:** 60 min  
**End of Boil Vol:** 75.92 l  
**Final Bottling Vol:** 67.00 l  
**Fermentation:** Ale, Two Stage

**Taste Notes:**

**Date:** 10 Mar 2018  
**Brewer:** Cinco Chagas  
**Asst Brewer:** Daniel Vidal  
**Equipment:** Teste 70L  
**Efficiency:** 75.00 %  
**Est Mash Efficiency:** 78.6 %  
**Taste Rating:** 30.0



### Ingredients

Amt	Name	Type	#	%IBU
14.81 kg	(pt) CHATEAU PILSEN 2RS (1.5 SRM)	Grain	1	67.8 %
3.29 kg	(pt) CHATEAU WHEAT BLANC (TRIGO) (2.3 SRM)	Grain	2	15.1 %
2.08 kg	(pt) CHATEAU CARA BLOND® (10.2 SRM)	Grain	3	9.5 %
1.65 kg	Corn Sugar (Dextrose) (0.0 SRM)	Sugar	4	7.5 %
50.27 g	Waimea [17.50 %] - Boil 60.0 min	Hop	5	25.8 IBUs
75.41 g	Waimea [17.50 %] - Boil 30.0 min	Hop	6	29.8 IBUs
175.95 g	Waimea [17.50 %] - Boil 0.5 min	Hop	7	2.0 IBUs
4.5 pkg	Safale American (DCL/Fermentis #US-05) [50.28 ml]	Yeast	8	-
411.76 g	Waimea [17.50 %] - Dry Hop 5.0 Days	Hop	9	0.0 IBUs

### Gravity, Alcohol Content and Color

**Est Original Gravity:** 1.076 SG  
**Est Final Gravity:** 1.014 SG  
**Estimated Alcohol by Vol:** 8.3 %  
**Bitterness:** 57.6 IBUs  
**Est Color:** 5.0 SRM

**Measured Original Gravity:** 1.046 SG  
**Measured Final Gravity:** 1.010 SG  
**Actual Alcohol by Vol:** 4.7 %  
**Calories:** 427.1 kcal/l

### Mash Profile

**Mash Name:** Single Infusion, Light Body, No Mash Out  
**Sparge Water:** 56.18 l  
**Sparge Temperature:** 75.6 C  
**Adjust Temp for Equipment:** TRUE

**Total Grain Weight:** 21.83 kg  
**Grain Temperature:** 12.0 C  
**Tun Temperature:** 12.0 C  
**Mash PH:** 5.20

### Mash Steps

Name	Description	Step Temperature	Step Time
Mash In	Add 50.45 l of water at 71.3 C	63.0 C	75 min

**Sparge:** Fly sparge with 56.18 l water at 75.6 C

**Mash Notes:** Simple single infusion mash for use with most modern well modified grains (about 95% of the time).

### Carbonation and Storage

**Carbonation Type:** Bottle  
**Pressure/Weight:** 394.09 g  
**Keg/Bottling Temperature:** 21.1 C  
**Fermentation:** Ale, Two Stage

**Volumes of CO2:** 2.3  
**Carbonation Used:** Bottle with 394.09 g Corn Sugar  
**Age for:** 30.00 days  
**Storage Temperature:** 18.3 C

### Notes

Created with BeerSmith



## Relatório de Estágio: Desenvolvimento de três cervejas

**Anexo 5 – Tabela com valores de absorvância a 540 nm e respectivas concentrações de açúcares redutores (mg/mL) das 6 amostras de cada uma das 4 cervejas.**

Amostras	Absorvância	Concentração diluída (mg/mL)	Concentração original (mg/mL)
Sal	0,659	2,38	23,8
	0,624	2,27	22,7
	0,645	2,33	23,3
	0,666	2,40	24,0
	0,667	2,40	24,0
	0,663	2,39	23,9
Salicórnia	0,365	1,46	14,6
	0,386	1,52	15,2
	0,363	1,45	14,5
	0,384	1,51	15,1
	0,364	1,45	14,5
	0,358	1,43	14,3
Framboesa	0,375	1,49	14,9
	0,385	1,52	15,2
	0,370	1,47	14,7
	0,383	1,51	15,1
	0,391	1,54	15,4
	0,390	1,53	15,3
Cerveja Método Champanhês	0,487	1,84	18,4
	0,494	1,86	18,6
	0,497	1,87	18,7
	0,474	1,80	18,0
	0,495	1,86	18,6
	0,498	1,87	18,7